T.C.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HEPATOSELLÜLER KANSERLİ HASTALARININ METABOLİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sedat YAVUZ

DANIŞMAN
Doç. Dr. İsmail KOYUNCU

Herhangi bir kurumdan destek alınmamıştır.

ŞANLIURFA
2023

TEŞEKKÜR

Araştırmada, çalışmalarımız boyunca ve tezin hazırlanmasında emeği geçen, gerek bilimsel konularda gerekse manevi anlamda benden yardımını esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'ya,

Eğitimim boyunca birçok değerli katkı sunan Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR, Uzm. Biyo. Özgür YÜKSEKDAĞ, Dr. Öğr. Üyesi Ebru TEMİZ, Öğr. Gör. Mehmet RAMAT, Öğr. Gör. Kadir EĞİ hocalarıma,

Yardımlarından dolayı laboratuvar çalışanları Mehmet ENEŞ ve İlyas POLAT'a,

İlk günden son güne maddi manevi her türlü desteklerini benden esirgemeyen annem Halime YAVUZ ile babam Abdülhamit YAVUZ'a,

Sevgili eşim Aysun ve kızlarım Arin Lina ile Ayşe Aden'e hayatımı güzelleştirip, verdikleri desteklerden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla…

Sedat YAVUZ
2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR ..... **i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **iv**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **v**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
ÖZET ..... **vii**
ABSTRACT ..... **viii**
1.GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Karaciğer Kanseri Tanımı ve Sınıflandırılması 3
2.2. Hepatoselüler Kanser (HCC, HKS) 4
2.3. Hepatosellüler Karsinoma Gelişimi ve İlerlemesi 6
2.3.1. Hepatit Virüsleri 8
2.3.2. Aflatoksine Maruziyet 8
2.3.3. Alkol Tüketimi 9
2.3.4. Obezite 9
2.4. Hepatosellüler Karsinomanın Semptomları, Belirtileri ve Tanısı 10
2.5. HCC'nın Evrelendirilmesi 10
2.5.1. Patolojik Tümör/Nod/Metastaz (TNM) Evreleme Sistemi 11
2.6. Hepatosellüler Karsinomanın Tedavisi 12
2.7. HCC'un Evrelerine Göre Tedavi Değerlendirmesi 12
2.7.1. Çok Erken Evre HCC 12
2.7.2. Erken Aşama HCC 13
2.7.3. Orta Evre HCC 13
2.7.4. İleri Evre HCC ve Terminal Evre HCC 14
2.8. Metabolomik 14
2.8.1. Hepatoselüler Karsinomda Metabolomiklere Firiş 16
2.8.2. Hepatoselüler Karsinomun İncelenmesi İçin Metabolomikler 17
2.9. Aminoasitler 20
2.10. Aminoasitlerin Sınıflandırılması 21

2.10.1. Polar Olmayan Alifatik R Grupları 21
2.10.2. Aromatik R Grupları 23
2.10.3. Polar, Yüksüz R Grupları 24
2.10.4. Pozitif Yüklü R Grupları 25
2.10.5. Negatif Yüklü R Grupları 27
2.11. Amino asit metabolizması 27
2.12. Kanser ve Aminoasitler 28
2.13. Tümörle ilişkili amino asit türevleri 28
2.14. Karnitin 32
2.14.1. Karnitin Biyosentezi ve Metabolizması 33
2.14.2. Karnitin Biyokimyası ve Fizyolojik Etkileri 34
2.14.3. Karnitin ve karaciğer hastalıkları 36
3. GEREÇ VE YÖNTEM 38
3.1.Kullanılan Araç ve Gereçler 38
3.2. Etik Kurul İzni 38
3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması 39
3.4. Plazmaların Elde Edilmesi 39
3.5. Numunelerin Aminosit ve Karnitin Profilinin incelenmesi 39
3.6. Diğer Biyokimyasal Parametreler 40
3.7. Elisa Çalışmaları 40
3.8. İstatistiksel Analiz 40
4. BULGULAR VE SONUÇLAR 41
4.1. Klinik ve Laboratuar Verilerinin Karşılaştırılması 41
4.2. Aminoasit Profilinin İncelenmesi 42
4.2.1. Kontrol ve Hepatosellüler Karsinom Hastalarının Aminoasit Profillemesi 42
4.3. Karnitin Profilinin İncelenmesi 45
4.3.1. Kontrol ve Hepatosellüler Karsinom Hastalarının Karnitin Profillemesi 46
5. TARTIŞMA 50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 55
7. KAYNAKLAR 56
8. EKLER 76
- Etik Kurul
- Orjinallik Raporu
- Turnutin
- Tez Veri Giriş Formu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. HCC'nin gelişim süreci 7
Şekil 2.2. Metabolomik analizlerde kullanılan genel teknolojiler 15
Şekil 2.3. HCC biyobelirteç keşfi ve HCC biyobelirteçlerinin ana uygulamaları için bir metabolomik analiz prosedürü şeması. 17
Şekil 2.4. Poliamin sentezi 29
Şekil 2.5. Prolin aşağı akış metaboliti 31
Şekil 2.6. Metabolik yollardaki amino asitler 32
Şekil 4.1. İki grup arasındaki esansiyel olmayan aminoasitlerin ortalama değer grafiği 43
Şekil 4.2. İki grup arasındaki, esansiyel aminoasitlerin ortalama değer grafiği 44
Şekil 4.3. İki grup arasındaki, metabolit aminoasitlerin ortalama değer grafiği 45
Şekil 4.4. İki grup arasındaki, karnitin-1 parametrelerinin ortalama değer grafiği 47
Şekil 4.5. İki grup arasındaki, karnitin-2 parametrelerinin ortalama değer grafiği 48
Şekil 4.6. İki grup arasındaki, karnitin-3 parametrelerinin ortalama değer grafiği 49

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. pTNM Evreleme Sistemi.....11
Tablo 4.1. İki Grup Arasında Klinik ve Laboratuar Verilerinin Karşılaştırılması 41
Tablo 4.2. Hasta ve kontrol grupların aminoasit profilinin istatiksel Analizi 42
Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grupların karnitin profilinin istatiksel analizi 46

SİMGELER DİZİNİ

HCC:	Hepatosellüler Karsinom (Karaciğer Kanseri)
HKS:	Hepatosellüler Karsinom (Karaciğer Kanseri)
HBV:	Kronik Hepatit B Enfeksiyonu
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
HCV:	Kronik Hepatit C Enfeksiyonu
HDV:	Hepatit D Virüsü
CCA:	Kolanjiyo karsinom (Safra Yolu Kanseri)
FDA:	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
MR:	Manyetik Rezonans
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
US:	Ultrasonografi
IL-1 β:	İnterlökin-1β
DNA:	Deoksiribo Nükleik asit
IL-2:	İnterlökin-2
IL-6:	İnterlökin-6
IL-17:	İnterlökin-17
ECM:	Ekstrasellüler Matriks
ROS:	Reaktif İnflamatuvar Sitokinlerin Ve Oksijen Türleri
VKİ:	Vücut Kitle İndeksi
Ser:	Serin
pTNM:	Patolojik Tümör Nod Metastaz
CLIP:	Cancer of the Liver Italian Program
BCLC:	Barcelona Clinic Liver Cancer
TAKE:	Transarteriyel Kemoembolizasyon
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
RNA	Ribonükleik Asit
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
ATP:	Adenizin Trifosfat
CPT-II:	Karnitin palmitoyl tranferaz-II

ÖZET

HEPATOSELLÜLER KANSERLİ HASTALARININ METABOLİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ

Sedat YAVUZ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Hepatoselüler karsinom (HCC), karaciğer kanserinin en yaygın şekli olup, dünya genelinde en yaygın beşinci kanser türüdür ve kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedenidir. Karaciğer kanseri, 2025 yılına kadar tahmini >1 milyon vakayla küresel bir sağlık sorunu olmaya devam edeceği tahmin edilmektedir. Yapılan birçok çalışmaya rağmen, hepatosellüler karsinomun patogenezi hakkında aydınlatılmayan birçok kısım bulunmaktadır. Bu nedenle, erken hepatosellüler karsinom hastalıkların tanısını ve klinik davranışını bireysel olarak daha kesin olarak tahmin edebilen yeni, daha spesifik ve uygun maliyetli biyobelirteçlerin keşfi ve geçerliliği önemli bir araştırma hedefidir. Bu nedenle HCC teşhisi ve taramasıyla ilgili metabolit değişikliklerini araştırmak büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada; hepatocellular kanser teşhisi konulmuş bireylerin plasma serbest aminoacid, karnitin ve açil karnitin profilini inceleyerek, tanı ve tedavide kullanılacak yeni biyobelirteçlerin tespit edilesi amaçlanmıştır. Çalışmada hepatosellüler karsinom olan 40 hasta ve sağlıklı 40 bireyden alınan plasma örneklerinde 14 serbest aminoasit, 27 karnitin ve açil karnitin profili LC-MS/MS ile incelendi. Dataların analizi SPSS ile yapıldı. Çalışmada kontrol gurubuna göre hepatosellüler karsinomlu bireylerde Methyl-Glutaryl hariç diğer tüm amino asidler anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Karnitin ve açil karnitin düzeyleri incelendiğinde; kontrol gurubuna göre hepatosellüler karsinomlu bireylerde C18-1-0H düzeyi artarken, kontrol grubuna göre hepatosellüler karsinomlu bireylerde C0, C2, C4, C4DC, C5, C6, C6DC, C8, C8-1, C10, C10DC, C12, C14, C14_1, C16, C16_1 anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Çalışma sonucunda elde edilen datalar; karnitin, açil karnitin ve serbest aminoasit profil değişikliklerinin, hastalığa özgü bulgular ortaya çıkartıp, hepatosellüler kanser tanı ve tedavisinde yenilikler sağlayacağını ümit ediyoruz.

Anahtar Kelimeler: Hepatosellüler karsinom, metabolomik, aminoasit, kanser

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE METABOLITE PROFİLE OF PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CANCER

Sedat YAVUZ

Department of Medical Biochemistry, Master's Thesis

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common form of liver cancer, the fifth most common type of cancer worldwide, and the second most common cause of cancer-related death. Liver cancer is predicted to continue to be a global health problem with an estimated >1 million cases by 2025. Despite many studies, there are many parts that are not clear about the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. Therefore, the discovery and validation of new, more specific, and cost-effective biomarkers that can more precisely predict the diagnosis and clinical behavior of early hepatocellular carcinoma diseases individually is an important research goal. Therefore, it is of great importance to investigate metabolite changes related to HCC diagnosis and screening. In this study; It is aimed to determine new biomarkers to be used in diagnosis and treatment by examining the plasma free amino acid, carnitine and acyl carnitine profiles of individuals diagnosed with hepatocellular cancer. In the study, 14 free amino acids, 27 carnitine and acyl carnitine profiles were analyzed by LC-MS/MS in plasma samples taken from 40 patients with hepatocellular carcinoma and 40 healthy individuals. Data analysis was done with SPSS. In the study, all amino acids except Methyl-Glutaryl were found to be significantly decreased in individuals with hepatocellular carcinoma compared to the control group. When carnitine and acyl carnitine levels are examined; While C18-1-0H level increased in individuals with hepatocellular carcinoma compared to the control group, C0, C2, C4, C4DC, C5, C6, C6DC, C8, C8_1, C10, C10DC, C12, C14, C14-1, C16, C16-1 significantly increased in individuals with hepatocellular carcinoma compared to the control group. was found to decrease. The data obtained as a result of the study; We hope that carnitine, acyl carnitine and free amino acid profile changes will reveal disease-specific findings and provide innovations in the diagnosis and treatment of hepatocellular cancer.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, metabolomics, amino acid, cancer

1. GİRİŞ

Karaciğer kanseri, dünya genelinde en yaygın beşinci kanser türüdür ve kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedenidir. Dünya genelinde yılda 854.000 yeni vaka ve 810.000 ölümle tüm kanserlerin %7'sini oluşturmaktadır. Hepatosellüler karsinom (HCC), primer karaciğer kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturur (1, 2). Hastaların çoğu tanı aldığında ileri evredir, tedavi yöntemleri ve tedavi şansı sınırlıdır. Beş yıllık sağkalımı %10'dan azdır.

Hepatoselüler karsinomun yaklaşık %90'ında etiyolojik neden bilinmektedir ve en sık nedenleri sırasıyla kronik hepatit B enfeksiyonu (HBV), kronik hepatit C enfeksiyonu (HCV) ve alkol kullanımıdır. Daha nadir olarak otoimmün hepatit, α-1 antitripsin eksikliği, kalıtsal hemokromatoz ve bazı porfirialar da neden olabilir (3). Hepatoselüler karsinom için risk faktörleri bölgelere göre değişmektedir. Afrika ve Doğu Asya'da en sık sebep kronik HBV enfeksiyonudur (%60). Batı ülkelerinde ise majör risk faktörü kronik HCV enfeksiyonudur ve HBV, HCC'li hastaların sadece %20'sinde görülmektedir. Dünya genelinde, HCC vakalarının yaklaşık %54'ü HBV enfeksiyonuna (400 milyon kişi), %31'i HCV enfeksiyonuna (170 milyon kişi) ve %15'i diğer nedenlere bağlıdır (1). Kronik hepatiti olan hastalarda siroz gelişme riski yıllık %1'dir. Siroz HCC için önemli bir risk faktörüdür ve genel olarak siroz hastalarının üçte biri yaşamları boyunca HCC geliştirecektir (2, 4). Sirozu olan hastalarda yıllık %1-8 oranında HCC insidansı mevcuttur (8). Tespit edilen tüm HCC vakalarının yaklaşık %70-90'ında siroz mevcuttur. Kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda HCC ile ilişkili diğer risk faktörleri arasında; yaşlılık, alkol-sigara kullanımı, serum ALT seviyelerinde yükseklik, coreprecore mutasyonların varlığı, HCV/HDV ko-enfeksiyonu ve HCC için aile öyküsü bulunmaktadır (5-6). Ayrıca; Diyet ile aflatoksin B1'e maruziyet, Afrika ve Asya'nın bazı bölgelerinde HCC gelişimi için önemli bir risk faktörüdür (7). Aflatoksin B1'e maruziyet, p53 gen mutasyonuna yol açarak HCC'ye neden olmaktadır (8-10).

Yapılan bu tür çalışmalara rağmen, hepatosellüler karsinomun patogenezi hakkında aydınlatılmayan bir çok kısım bulunmaktadır. Bu nedenle, erken hepatosellüler karsinom hastalıkların tanısını ve klinik davranışını bireysel olarak daha kesin olarak tahmin edebilen yeni, daha spesifik ve uygun maliyetli biyobelirteçlerin keşfi ve geçerliliği önemli bir araştırma hedefidir. Günümüzde kanser hastalıkları başta

olmak üzere çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisi için yeni markırlar proteomiks, genomiks ve metabolomik teknikleri ile tespit edilmektedir.

Metabolomik, vücuttaki birçok homeostatik sistemi modifiye etme kapasitesine ve sonuç olarak, birçok metabolitin üretimini, kullanımını ve seviyelerini değiştirme kapasitesine sahip olduğu gibi, yeni biyobelirteçler ve terapötik hedeflere dayanan güçlü bir analitik araçtır. Metabolomik bir yaklaşım, biyokimyasal imzaların keşfine ve sonuç olarak, invaziv olmayan örneklerde düşük-yüksek riskli hastalarda metabolik fenotipler arasındaki farklılıklara izin verebilir. Bu amaçla bu çalışmada; hepatosellüler karsinomlu teşhisi konulmuş hasta bireylerin kan aminoasit profili karşılaştırılarak, hastalığın patogenezinde aminoasitlerin fonksiyonu tespit edilecektir.

Bu çalışmada gastroenteroloji polikliniğe gelen hepatosellüler kanser tanısı alan 40 hasta ve 40 sağlıklı bireyden kan örneği alınacak. Elde edilen serumlardaki aminoasit profili LC-MS/MS ile incelenerek gruplar arası farklılık istatiksel olarak karşılaştırılacak. Yapılacak olan bu çalışma ile serbest aminoasitlerden elde edeceğimiz profil değişikliklerinin, hastalığa özgü bulgular ortaya çıkartacağını umut ediyoruz. Bunun hepatosellüler tanı ve tedavisindeki rolü tespit edilecek, tedavisinde yenilikler sağlayacaktır. Bu konuda geniş bir seride çalışma yaparak hem bilime katkıda bulunmayı hem de hepatosellüler kanserin tanı ve tedavisinde yeni markırlarını tespit etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Kanseri Tanımı ve Sınıflandırılması

Metastatik olmayan karaciğer kökenli kanserlerinin çoğunluğu, hepatosit hücrelerinden, safra kanalı intrahepatik hücrelerinden ya da epitellerden köken almaktadır. Karaciğerin birincil epitel kanserleri, köken aldığı hücrelerin tipine ve histolojik özelliklerine göre 6 sınıfta değerlendirilir (11). Globocan (2020) verilerinde dünyada en sık rastlanan kanser vakası yaklaşık yarısı Asya kıtasındadır, ardından yaklaşık yüzde 25'i ile Avrupa kıtasında rastlanmaktadır.

Karaciğerin kendi epitel hücrelerinden kaynaklanmayan karaciğer kanserlerine sık rastlanılmamaktadır. Karaciğer kanserlerinin global gösterdiği dağılım, diğer kanser türlerine nazaran daha fazla değişkenliğe sahiptir (12). Bir karaciğer kanseri olan Hepatoblastom, çocukluk çağında görülen bir kanserdir ve farklılaşma paternine sahip malign embriyonal bir tümördür. Fetal epitel benzeri hücre grubundan embriyonik hücreleredek değişiklik gösteren ve osteoid hücrelere benzer lifli bağ dokuya ve çizgili kas liflerine sahip farklılaşmış mezenkimal dokulara etki eden kanserhücreleridir.(13).

Karaciğer içindeki (intrahepatik) safra kanalının kanserleri solid veya kistik olabilmektedir. Kolanjiyokarsinom (CCA) pek çok popülasyonda sıklıkla nadir görülmektedir, fakat karaciğerin primer kanserleri içinde ikinci sırada yer almaktadır. İntrahepatik safra kanalı hücrelerine benzeyen hücreler içerir (14).

Safra kanalının adenokarsinom tümörü, mukus salgılayabilen veya nadiren siroz yapabilen, papiller katlanmaları olan epitelle kaplı kistik yapıda bir oluşumdur. Lezyonların kaynağı karaciğerin hilum ve proksimal kanallarıdır. Kombine hepatosellüler ve kolanjiyokarsinom, hem hepatosellüler hem de kolanjiyo karsinomun, kesin olarak karıştırılan kesin unsurlarını içeren nadir bir tümördür (15). Hepatosit hattının kanserleri arasında, hepatosellüler karsinom (HKS) dünya çapında en yaygın bulunan tiptir.

Karaciğerin birincil kanserleri, hepatosellüler karsinomu ve intrahepatik kolanjiokarsinomu ve diğer nadiren rastlanan hastalıkları ifade eder. Hepatosellüler karsinom'un başlıca risk faktörleri, ağır alkol alımı, hepatit B virüsü (HBV) veya C virüsü (HCV), obezite, aflatoksinle kontamine gıda maddeleri, sigara ve tip 2 diyabet gibi süreğen durumlardır ve risk faktörleri bölgeler arası farklılık gösterebilmektedir (16). Çin ve doğu Afrika gibi yüksek HKS vakalarının olduğu bölgelerde en önemli faktörler, kronik HBV enfeksiyonu ve aflatoksin maruziyetidir. Diğer bölgelerdeyse HCV enfeksiyonu kilit rol oynamakta ve Moğolistan'da olduğu gibi farklı bölgelerde ise HBV, HCV ve hepatit virüsleriyle beraber alkol kullanımı da vakaların artmasına zemin hazırlamaktadır. Obezitenin globalartışı da düşük riskli HKS bölgelerinde HKS insidansını artıranbir etkendir (17). 1980'lerden beri, HBV kaynaklı HKS vakalarını engellemek amacıyla aşı uygulamalarına başlanmıştır ve bu sayede yüksek riskli bölgelerde daha genç yaşlarda HBV enfeksiyonunun ve de HKS'un görülme sıklığı ciddi anlamda azalma göstermiştir. (18,19).

2.2. Hepatoselüler Kanser (HCC, HKS)

Karaciğer kanserleri arasında en yaygın rastlanan türleri, karaciğerin primer kanserleridir. Primer karaciğer kanserleri arasında yaygın olanlar ise; hepatosellüler karsinoma, kolanjiokarsinom, hepatoblastom, karaciğer anjiosarkom ve diğer alt tipleridir (20). Karaciğer primer habis tümörleri, hepatositlerden ve intrahepatik safra kanallarının epitelyumu ve mezenşimal dokulardan köken almaktadır (21). HCC hepatositlerden köken alan karaciğerin en sık görülen primer habis tümörüdür. Tüm malign hastalıklar arasında HCC'nin görülme sıklığı % 2 dolaylarındadır (22). En sık rastlanan tümörlerde erkek cinsiyette 5. kadın cinsiyette 8. sırada yer almaktadır. (23). HCC'nin mortalitesi ve morbiditesi yüksek olup bölgeden bölgeye değişmektedir. İnsidansı Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da 1/100 bin'den azdır fakatGüneydoğu Asya ve Güney Afrika'daysa 60/100 bin'den fazladır (24). Türkiye, düşük riskli ülkeler arasında bulunmaktadır (25).

Primer karaciğer kanserlerinin %75'ini kapsayan Hepatosellüler karsinoma ekseriyetle hastalığın geç dönemlerinde tanı almaktadır ve bunun nedenleri arasında efektif erken tanı testlerinin olmayışı, hastalığın erken dönemlerinde semptomsuz seyretmesi ve kanser taramalarının yetersizliğiörnek verilebilir (20,26,27).

HCC multifaktöriyel bir hastalıktır ve etyolojisinde pek çok faktör yer almaktadır. Bunlar tümör gelişim mekanizmasıylabağlantılı olan major ve minör risk faktörleri olarak iki ana başlıkta sayılabilirler. HCC patogenezinde önde gelen faktörler HBV/HCV enfeksiyonu ve alkolizmdir. Ayrıca, aflatoksin maruziyeti, hepatosteatoz, yetersiz ve yanlış beslenme, sigara tüketimi, demir fazlalığı, kimyasal karsinojenlere ve nitritlere maruziyet de HCC patogenezindeki diğer risk faktörlerini teşkil etmektedirler (28-30). Dünyada bir yılda yaklaşık 1,25 milyon bireyin ölümüne sebep olan ve kanser ilişkili ölümler arasında en sık rastlanan nedenlerden olan olan HCC'nin patofizyolojisi henüz net olarak anlaşılamamıştır (31).

HCC, DNA tamirinde ve tümör baskılanmasında etkili olan genlerde ve onkogenlerde mutasyona sebep olan, genel olarak kimyasal bileşenler ya da virüslerce uyarılan çok adımlı bir süreçtir (32). Bu süreç inflamasyonu ve ardından sirozu içerir. Hepatosit hücrelerde malign transformasyona yol açanbir takım genetik değişikliklere sebep olur. Bunların haricinde HCC, hafif karaciğer hastalığının ardından da ortaya çıkabilir (33). HCC'nin erken evredeki tipik özelliği sessiz ilerlemesi ve yavaş büyüyerek ileri evreye gelene kadar çok az semptom göstermesidir. Bundan dolayı primer tümörün henüz küçükken bile intravasküler veya intrabiliyer sahada yayılma eğilimi gösterir ayrıca bu nedenler yüzünden tedavi yaklaşımları kısıtlanmakta ve ölüm oranını da artmaktadır (28,34,35).

HCC'de hastalığın seyri, tanının konması ve uygun tedavi uygulanması için önemli bir faktördür (36). Karaciğer kanserlerinin erken zamanda ve kesin olarak tanımlanması, klinik olarak kuşkulanmaya, tarama protokolleri ve doğru uygulamalara, radyolojik görüntülemelere ve serolojik testlere dayanmaktadır (28). HCC prognozu oldukça kötüdür ve günümüz şartlarında ileri evre HCC gelişimini geri çevirecek bir tedavi mevcut değildir. Tedavi almayan HCC'li bireylerin sağ kalımları ortalama 7 ay gibi bir süredir (26). Tedaviler arasında Karaciğerincerrahi olarak kısmi rezeksiyonu ve karaciğer nakli günümüz en başarılı tedavi yöntemleri olsalar da sadece ilerlememiş olgulara uygulanabilmektedir. İleri evredeki HCC hastalarında ve cerrahi girişimin

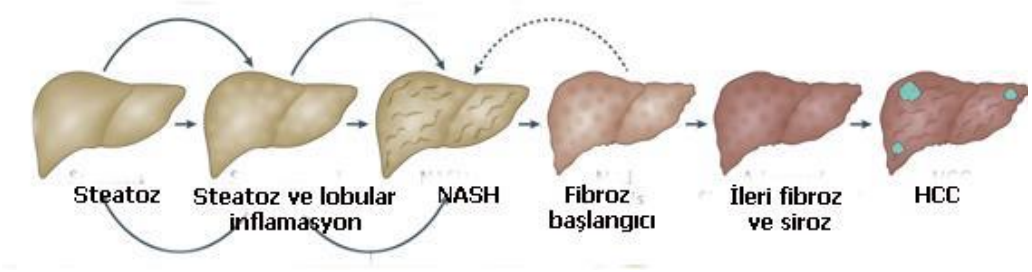
ardından nüks gelişiminde uygulanacak tedaviler ise oldukça kısıtlıdır. Günümüze dek yalnızca iki multikinaz inhibitörü (Sorafenib ve Regorafenib) HCC tedavisinde kullanılmak için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nden kullanım izni almıştır. Her iki ilaç da toplam sağkalımı anlamlı olarak artırsa da sağkalım süresiileri evre hastalar için bir yıldan daha uzun olmamaktadır (37). HCC'dekı bu kötü sağkalım oranlarının en ciddi sebepleri vasküler invazyon ve metastaz gelişimi görülmesidir. Komşu organlara yayılım ve özellikle portal ven ve diğer kan damarlarına invazyon oldukça sıktır. HCC hücreleri bu yolla diyaframa, kolona ve peritonal boşluğa yayılabilir ve damar içinden uzak organlarda metastaz yaparak kemiğe, akciğere, beyne ve adrenal bezlere de ulaşabilmektedir (38).

2.3. Hepatosellüler Karsinoma Gelişimi ve İlerlemesi

Kötü diferansiye olması, fibröz kapsüle sahip olmayışı, büyük tümör nodül boyutları (>5cm), vasküler invazyon, erken metastaz ve alfa-fetoprotein (AFP) seviyelerinin yüksek olması HCC'nin önemli özelliklerindendir. (39). HCC'nin takibi oldukça karmaşık bir klinik deneyimdir çünkü tümör değişik radyolojik görüntüler sergilemekte ve sıklıkla sirotik rejeneratif ve displastik nodüllerle birlikte bulunur (40). HCC'nin tanısında en sık başvurulan görüntüleme yöntemleri Ultrasonografi (US), manyetik rezonans (MR), bilgisayarlı tomografi (BT) taramasıdır (28). Altın standart tanı aracı ise karaciğerdeki tümörlerin histolojik incelemesidirfakat biyopsi sırasında kanama ve tümörün yayılması risklerinden dolayı bu uygulama yapılmadan önce iyi düşünülmelidir. HCC'nin erken tanısını sağlayan klinik olarak geçerli belirteçler ve ayırt edici klinik bulgular olmadığından hastalığın tanısıilerlemiş evrede konulabilmektedir. Aynı şekilde tanının erken konmaması nedeniyle tedavide zorluklar yaşanmaktadır. (40).

Karaciğerin %80'ini parankimal hücreler ve hepatositlerden köken alır. Bu hücreler gelen kana filtreleme uygulayarak hepatotoksik molekülleri metabolize eder fakat toksik etkilerine de maruz kalırlar. Viral enfeksiyonlar, çevresel ajanlara maruziyet, aşırı alkol tüketimi gibi etkenlerle kronik etkileşim hepatosit ölümlerine neden olarak karaciğerde inflamatuvar bir ortamınoluşmasına zemin hazırlamaktadır (41). İnflamatuvar süreçterol alan sitokinlerden Tümör nekroz faktörü α (TNF α),

interlökin-1β (IL-1 β), interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-17 (IL-17) inflamatuar yanıtta en önemli sitokinlerdir. İnflamatuvar süreç boyunca karaciğerdeki Küpffer hücrelerinin salgıladığı pek çok proinflamatuvar sitokin, parenkimal hücrelerde aktivasyona yol açarak hasarın onarılması amacıyla rejenerasyon sürecini tetiklemektedir. Sitokinlerin uyardığı iyileşme sürecine büyüme faktörleri de katkı sağlamakta, uyarılan sinyal yolları daimî rejenerasyon sürecini uyarmaktadır. Bu sürecin uzun vade sonucu premalign hepatosit proliferasyonu, anjiyogenezis, sağkalım gibi hücre yanıtlarını kontrol eden mekanizmaların deregülasyonu ve ekstrasellüler matriks (ECM) içeriğinin bozulmasıdır (Şekil 2.1). Bu da fibrozis vb karaciğer yapısında bozulmaya yol açan değişikliklere sebep olmaktadır (42).



Şekil 2.1. HCC'nin gelişim süreci (42).

Fibrozis, normalde akut karaciğer hasarı durumunda karaciğerin bütünsel yapısını koruma amaçlı gelişen, yara iyileşmesini uyaran naif bir mekanizma iken, daimî hasar varlığında süreğen ve fonksiyonel olmayan bir mekanizma haline gelir ve HCC gelişimine zemin hazırlayan oldukça önemli basamaklardan biri olur. Kronik fibroziste fibrotik yara oluşumu gözlenir ve bunun ardından genel olarak siroz gelişimi gerçekleşir. Sağlıklı karaciğerden, alkolik olmayan hepatosteatozis evresine dek oluşan bozulmalar tedavi edilebilirken, hepatosteatoz sonrası gelişen siroz ise geri dönüşümü olmayan bir hasar oluşturur (41,42).

Sirozun gelişimi süreci çok basamaklı olup uzun sürer ve hastalarının %70-90'ında HCC gelişimine sebep olur. HBV/HCV enfeksiyonları da sirozun gelişiminde ciddi rol oynamaktadır. Kronik hepatitin gelişimi bireylerde enfekte olduktan itibaren ortalama 10 yılda, siroz gelişimi 20 yılda, HCC gelişimiyse ortalama 30 yılda gerçekleşmektedir. Basamak basamak ilerleyen sirozda hastalık inflamasyona bağlı kronik hasar, rejenerasyon ve displazi doğrultusunda gelişmektedir (38). Siroz

gelişmeden alkolik olmayan hepatosteatozla ilişkilendirilen HCC'de en önemli etiyolojik neden metabolik sendrom kabul edilmektedir (43,44). HCC gelişimi genetik faktörlerden ziyade çevresel faktörlerin rol oynadığı bir hastalıktır. En önemli çevresel risk faktörlerinden kronik hepatit B/C enfeksiyonları, aflatoksine maruziyet, alkol kullanımına bağlı gelişen siroz, yağlı karaciğer hastalığı, obezite ve diyabet yer almaktadır (45).

2.3.1. Hepatit Virüsleri

Hepatit B ve C enfeksiyonları en sık gözlenen etiyolojik ajanlardır. Hepatitis B virüsünü taşıyıcılarının hayat boyu HCC geliştirme riski %10-25'tir, HBV bir DNA virüsüdür ve hepatositleri enfekte ederek hücre genomuna yerleşmekte, bu süreçte oluşan mutasyonlar ise HCC gelişimine zemin hazırlamaktadır (46). Hepatitis virus C ise genoma entegre olmayan bir RNA virüsüdür ve genellikle tümörigenez başlangıcında primer rol oynamamaktadır. Ancak ileri dönemde özellikle siroz gelişiminde önem kazanmaktadır, kronik HCV enfeksiyonu sonrasında HCC gelişme riskinin 10-20 kat artmasına neden olmaktadır (47,48). Son yıllarda geliştirilen antiviral tedaviler ve koruyucu aşı programları sayesinde hepatit enfekte HCC hasta sayısı oldukça düşmüştür. Tayvan'da gerçekleştirilen 30 yıllık bir önleyici aşı programının raporu, HBV aşılamasının HCC görülme sıklığını %80, ölüm sıklığını ise %92 düşürdüğünü göstermektedir (49).

2.3.2. Aflatoksine Maruziyet

Aflatoksinler Aspergillus türlerinin ürettiği mikotoksinlerdir ve genel olarak kuru baklagiller, buğday, mısır ve yer fıstığında rastlanabilen ve HCC gelişiminde yer alan önemli genototoksik ajanlardandır. Bu ajanların başında Aflatoksin B1 gelir (50). Vücuda alındıktan sonra kanyoluyla karaciğere ulaşır ve hepatositlerin içine alınarak hücre içindeki sitokrom P-450 sistemiyle metabolize edilirler. Metabolizasyon esnasında ortaya çıkan AFV1-8,9-epoksit oldukça kararsız bir reaktif moleküldür ve hücre içindeki DNA'ya ve diğer proteinlere zarar verebilir (51). Bu şekilde oluşan mutasyonlar tümör oluşum sürecini başlatır.

2.3.3. Alkol Tüketimi

Kronik alkol tüketimi global bir sorun olup en sık gelişmiş ülkelerde görülen önemli bir çevresel risk faktörüdür. Aflatoksinde olduğu gibi, alkolün de metabolizması karaciğerde olduğundan bu metabolizasyon esnasında en büyük zarar karaciğer hücrelerinde görülmektedir (52). Alkol karaciğerde metabolize olurken oksidatif olarak asetaldehid oluşur vebu toksik ve karsinojenik olan molekül dolaşıma katılır, ardından bağırsak duvarında incelmeye neden olur ve bu incelmeyle endotoksinlerin vücuda geçişinde artış gözlenir (53). Endotoksinler Kuppfer hücrelerinden reaktif inflamatuvar sitokinlerin ve oksijen türlerinin (ROS) salınımına sebep olarak karaciğerde kronik inflamasyonu başlatırlar. Aynı zamanda alkolün uzun süre tüketimi özellikle diğer risk faktörleri varlığında HCC gelişimi için daha büyük risk etkeni olmaktadır; örneğin endotoksin maruziyetininin etkisini artırır veyaHepatit virüs enfeksiyonu riskini yükseltir, veyahut alkol kullanımıyla artan CYP450'nin aktivasyonuyla diyet yoluyla ve sigarayla alınan karsinojenlerin daha yüksek metabolizasyonunu sağlanarak hepatosit hücrelerinde daha çok miktarda karsinojen ajanın birikmesine neden olabilmektedir (53). Bu kronik inflamasyonun ve karsinojenlerin birikimiyle beraber alkole bağlı karaciğer yağlanması, fibrozis, siroz ve HCC gelişimi hızlanmaktadır.

2.3.4. Obezite

Obezite, 1997'de DSÖ tarafından küresel bir epidemi olarak tanımlanmış ve VKİ (vücut kitle indeksi) 30 kg/m2 ve üzeri bireyler 'obez' olarak sınıflandırılmıştır. DSÖ'nün verilerine göre obez yetişkinlerin sayısı 1975'ten beri global olarak üçe katlanmış, 2016 yılında yetişkinlerde fazla kilolu oranı %39 iken, obez oranı ise %13'tür (54). 2005 yılında yayınlanan bir araştırmada dünyada 937 milyon fazla kilolu, 396 milyon obez yetişkin mevcutken, ileriye dönük yapılan analizlerde 2030 yılında bu sayıların sırasıyla 1,35 milyara ve 573 milyona ulaşacağı tahmin edilmiştir (55). Fakat yeni projeksiyon analizleri daha şimdiden 2030 yılında dünya genelinde obezite oranının %48,9 olacağını göstermektedir (56).

Bahsedilen risk faktörlerinin HCC gelişimine etkisi sürekli değişkenlik göstermekle birlikte HCC insidansı dünya genelinde artış göstermeye devam etmektedir. Özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde karaciğer malignitelerine bağlı morbidite ve mortalitede obezite ilintili paralel bir artış görülmektedir. Amerika'da HCC gelişimi günümüzde geçmişe göre en az 3 kat artış göstermiş ve hastaların üçte birinde hepatit enfeksiyonu eşlik etmemektedir (57). Bu artışta etkili olan kaynağın obeziteyle ilişkili diyabet, hepatosteatoz olduğu bildirilmektedir. Mayo Clinic'te alkolik olmayan hepatosteatoz hastalarıyla yürütülen güncel bir çalışmada obeziteyle ilişkili diyabeti olan hastalarda HCC gelişimi riski anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (58).

2.4. Hepatosellüler Karsinomanın Semptomları, Belirtileri ve Tanısı

HCC'de ortalama sağkalım 6-20 ay arasında sürmektedir. Kompanse edilmiş sirozlu bir bireydesarılık, ensefalopati, asit ya da varis kanaması vb dekompanzasyona ait bulguların ortaya çıkması halinde klinik olarak HCC'den şüphelenilmesi gerekir. Dekompanzasyonun bu belirtileri genellikle tümörün hepatik vene ya da portal vene uzanımı veyahut tümörün oluşturduğu arteriovenöz şantın sonucunda görülmektedir. Hastaların bazısında kilo kaybı, karın ağrısı, palpabl kitle, obstruktif sarılık, diyare, paraneoplastik semptomlar (hipoglisemi, hiperkalsemi, eritrositoz, cilt bulguları vb) ve intraperitoneal kanamaya rastlanabilir. Semptomatik HCC hastalarında 5 yıllık sağkalım %0- 10 civarındayken cerrahi rezeksiyonun ardından veya karaciğer nakli yapıldıktan sonra bu oran %50 civarına yükselmektedir. Bu sebeple HCC'nin erken tanısı ve tedavisi oldukça önemlidir (59).

2.5. HCC'nın Evrelendirilmesi

HCC teşhisinin konmasının ardından, hastalığın tedavisinde bir sonraki adım 'evreleme'dir. Kanser evrelemesinde amaç, tedavi yöntemlerinden en uygun olanı belirlemek ve hastaları tahmini sağ kalımlarına göre sınıflandırmaktır. Belirli bir gruptaki hastalar, diğer gruptakilerden farklı bir sağkalıma sahip olmalı ve gruplar homojen bir sağkalım süresi tahminine sahip olmalıdır. Fakat HCC'de diğer kanser türlerine göre farklılık vardır: sağkalım, ağırlıklı olarak tümörün biyolojik yapısına

değil, ayrıca karaciğer fonksiyonu ve altta yatan hastalıklara da bağlıdır. İlaveten, karaciğer nakli hariç, HCC tedavisi için pek çok seçenek, karaciğerin fonksiyonlarında belirgin azalmaya sebep olmaktadır (60).

Global bir anlaşım sağlanmış bir evreleme sistemi mevcut değildir. HCC için günümüzde kullanılan evreleme yöntemleri şunlardır: Patolojik Tümör Nod Metastaz (pTNM), Cancer of the Liver Italian Program (CLIP), Barcelona Clinic LiverCancer (BCLC) ve Okuda'dır.

2.5.1. Patolojik Tümör/Nod/Metastaz (TNM) Evreleme Sistemi

pTNM evreleme sistemi, HCC dışısolid tümörler için kullanılanlara benzerdir fakat altta yatan karaciğer fonksiyonlarının durumu hesaba katılmadığından kullanımı ve doğruluğu sınırlı kalmaktadır.

Tablo 2.1. pTNM Evreleme Sistemi

Kategori	Tanım
T	**Primer tümör boyutu, sayısı yada yeri**
T0	Primer tümör mevcut değil
T1	Damar invazyonu olmayan soliter tümör
T2	Damar invazyonu olan soliter tümör veya en büyük çapı 5 cm'den küçük olan multiple tümör
T3	Portal yada hepatik damarların ana dallarından birini invaze eden tümör veya 5 cm'den büyük multiple tümör
T4	Safra kesesi dışında komşu organların doğrudan yada viseral periton perforasyonu ile invazyonu
N	**Lenf nodu tutulumu**
N0	Lenf nodu tutulumu yok
N1	Lenf nodu metastazı mevcut
M	**Metastaz varlığı**
MO	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
EVRE	**TNM Kategorilerine göre evre**
EVRE I	T1 N0 M0
EVRE II	T2 N0 M0
EVRE IIIA	T3 N0 M0
EVRE IIIB	T4 N0 M0
EVRE IIIC	Herhangi bir T N1 M0
EVRE IV	Herhangi bir T herhangi bir N M1

2.6. Hepatosellüler Karsinomanın Tedavisi

Geçmişte HCC olguları genel olarak hastaların semptom gösterdiği, karaciğer fonksiyonlarının ileri derece bozulmuş olduğu evrelerde tanı almaktayken, günümüzde tarama ve takip programlarının varlığında henüz HCC'ye bağlı semptom ve belirtiler ortaya çıkmadan, erken evrelerde tanı konabilmekte ve sağkalımın süresini artıracak birçok tedavi seçeneği vardır (61,62). BCLC kriterlerine göre HCC olguları tümör yükü, karaciğer rezervi ve hastanın genel durumuna göre en iyi tedavinin belirlenmesine yönelik olarak evrelenmektedir. Bu sisteme göre HCC 5 evrede değerlendirilmektedir.

2.7. HCC'un Evrelerine Göre Tedavi Değerlendirmesi

2.7.1. Çok Erken Evre HCC

Çok erken evre HCC, 2 cm'den az çapı olan semptom göstermeyen, soliter malignite olarak tanımlanmaktadır. Çok erken evre HCC ve Child-Pugh A karaciğer fonksiyonu olan hastalar için Avrupa Karaciğer Çalışmaları Derneği-Amerikan Karaciğer Hastalıkları Çalışmaları Derneği (EASL-AASLD) tarafından cerrahi rezeksiyon önerilmektedir (63). Çok erken evre HCC'de cerrahi rezeksiyon uygulanmasının ardından 5 yıllık sağkalım ve nüks oranları sırasıyla %70 ve %68 olarak bildirilmektedir (62).

Satelit nodüllerin ve trombosit sayısının 150.000/µl'nin altında olması bağımsız olarak sağkalım ile ilişkiliyken, uydu nodüllerinin ve sirozun varlığı ve anatomik olmayan rezeksiyonun kullanımı tümör nüksüyle bağımsız olarak ilişkilidir (64). Perkütan ablasyon çok erken evre HCC için kabul edilebilir bir sonuç elde edebilir: 5 yıllık hastalıksız sağkalım oranı % 62 ve 5 yıllık genel sağkalım oranı % 78 (65). Ayrıca, RFA'nın operabl HCC'lı hastalarda, inoperabl HCC'lı hastalara göre daha iyi bir genel sağkalıma yol açtığı öne sürülmüştür. Bazı gruplar daha az yan etki ile ilişkili olduğu için rezeksiyon mümkün olduğunda bile RFA'nın birinci basamak tedavi olarak değerlendirilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir (66). Cerrahi rezeksiyonun RFA'dan üstün olup olmadığı konusu tartışmalıdır. Bu nedenle, lokal ablasyonun çok erken evre HCC için ilk basamak tedavi olarak veya cerrahi rezeksiyonun yerine geçmesi için önerilmeden önce daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

2.7.2. Erken Aşama HCC

Erken evre HCC, Milan kriterlerine göre şu şekilde tanımlanır: ≤5 cm çapında tek bir tümör nodülü veya 3 cm çapında ≤3 nodül (67). Tüm HCC hastalarının yaklaşık % 25'i erken evre HCC ile teşhis edilir. EASL-AASLD kılavuzlarına göre, erken evre HCC, karaciğer nakli veya RFA için bir endikasyondur (63). Karaciğer nakli optimal yaklaşımdır, ancak karaciğer nakli uygun olmadığında lokal ablasyon yerine geçebilir. Soliter tümörü olan ve portal hipertansiyonu olmayan hastalarda karaciğer rezeksiyonu düşünülmelidir (68). Milan kriterlerini karşılayan ve ardından karaciğer nakli yapılan hastaların 4 ve 5 yıllık sağkalım oranları sırasıyla % 85 ve% 70'tir (69). Erken evre HCC tedavisinde karaciğer naklinin mükemmel etkinliğine rağmen, bekleme süresi boyunca donör karaciğer eksikliği veya tümör progresyonu kaçınılmaz olarak hastaların bekleme listesinden çıkmasına neden olur. Aylık bırakma oranı yaklaşık % 4'tür (70,71). Bu nedenle, başta RFA olmak üzere lokal ablatif tedaviler, Milan kriterlerini karşılayan erken evre HCC için alternatif tedaviler olarak araştırılmıştır. Yakın tarihli bir meta-analiz, cerrahi rezeksiyonun daha uzun genel sağkalım, daha uzun rekürrenssiz sağkalım ve düşük lokal nüks oranına yol açması nedeniyle RFA'dan daha üstün olduğunu göstermesine rağmen, analiz esas olarak randomize olmayan kontrollü çalışmalara dayanıyordu (72). Sonuç, bu nedenle dikkatle yorumlanmalıdır. Lokal ablatif tedavi ve cerrahi rezeksiyonun erken evre HCC tedavisi için eşdeğer etkinliğe sahip olup olmadığını açıklığa kavuşturmak için daha fazla randomize kontrollü çalışma gereklidir.

2.7.3. Orta Evre HCC

Kanserle ilişkili semptomlar, makrovasküler invazyon veya ekstrahepatik yayılım olmaksızın büyük veya multifokal bir tümör kitlesi ile başvuran Child-Pugh A ve B karaciğer fonksiyonu olan HCC hastalarına orta evre HCC tanısı konur. Transarteriyel tedavi, özellikle transarteriyel kemoembolizasyon (TAKE), EASL-AASLD kılavuzlarına göre, HCC'nın bu aşaması için önerilmektedir. Bu hasta popülasyonunda da bir cerrahi yaklaşım benimsenmiştir. Karaciğer naklinin orta evre HCC için kritik kabul edilmesi gerektiği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, orta evre HCC için cerrahi

rezeksiyon, kötü uzun vadeli sağkalım oranları ile ilişkilidir; cerrahi rezeksiyon sonrası 3, 5 ve 10 yıllık sağkalım oranlarının sırasıyla % 35,1, 18,2 ve 3,5 olduğu bildirilmektedir (69).

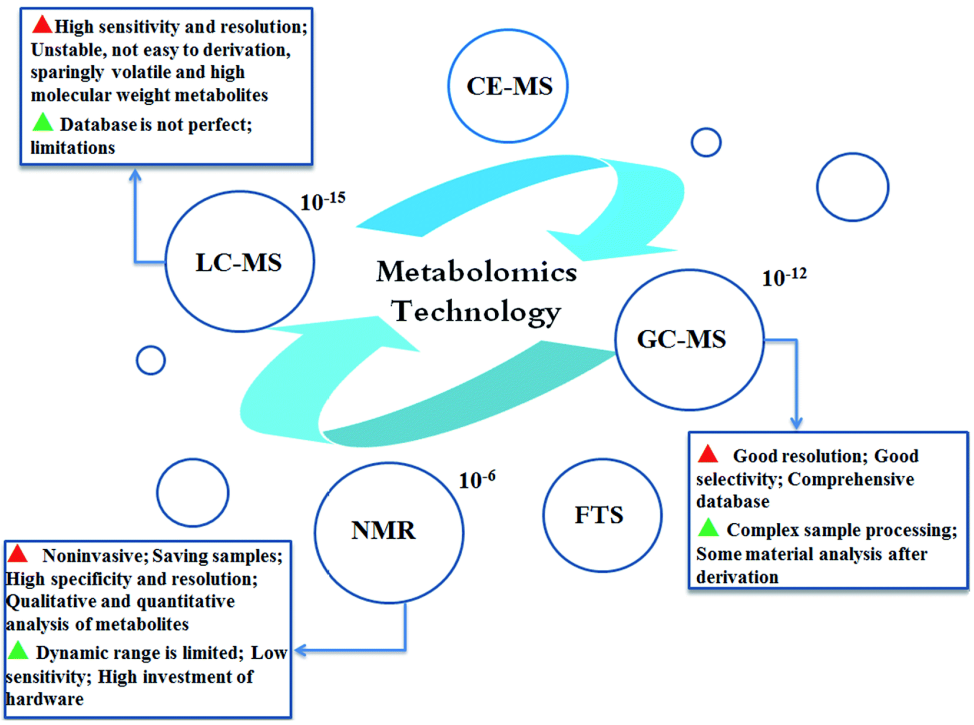
2.7.4. İleri Evre HCC ve Terminal Evre HCC

Kanserle ilişkili semptomlar, vasküler invazyon veya ekstrahepatik yayılım gösteren HCC'nın ileri aşamada olduğu kabul edilir. Bu aşama için tedavi önerisi oral Sorafenib tedavisidir. Sorafenib uygulamasından sonra sağkalımdaki iyileşmelere rağmen, HCC'nın bu evresine sahip hastalar için prognoz hala zayıftır ve medyan genel sağkalım oranı 6,5-10,7 aydır. Terminal evre HCC, fiziksel kapasitede ciddi bozulma ve karaciğer yetmezliği, vasküler invazyon veya ekstrahepatik yayılma ile ilgili semptomları içerir. Bu aşamada sadece semptomatik tedaviler mevcuttur ve medyan sağkalım 3 ayın altındadır (69).

2.8. Metabolomik

Metabolomik, biyolojik bir sistemdeki tüm düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin kapsamlı profilini ifade eder. 'Metabolomik' içeren genel bir terim olarak metabolik profil oluşturma, fizyolojik tepkilerin, ilaçların ve hastalık uyaranlarının bütünsel metabolizmasının araştırılmasını içerir; (73) 'metabolomik', aralarında yeni bir köprü kurmak için biyolojik sıvı numunelerindeki tüm küçük molekülleri tanımlamaya ve ölçmeye çalışır. genotip ve fenotip (74) Şu anda nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR), sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) ve gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (GC-MS) metabolik teknikleri yaygın olarak kullanılan analiz yöntemleridir (75). NMR spektroskopisi, birçok erken metabolomik çalışma. Şu anda MS ile birleştirilmiş GC ve LC dahil olmak üzere kromatografik teknikler de sıklıkla kullanılmaktadır; (76) kılcal elektroforez-MS ve Fourier dönüşüm spektrometrisi de metabolomik analizde (77,78) kullanılan başlıca spektroskopik teknikler olarak ortaya çıkmaktadır (Şekil 2.2). NMR, numuneler bozulmamış durumdayken daha düşük hassasiyet gösterir; NMR spektral profilleri, metabolitlerin daha doğrudan tanımlanabilmesi için sistematik olarak sınıflandırılmıştır (79-81) NMR

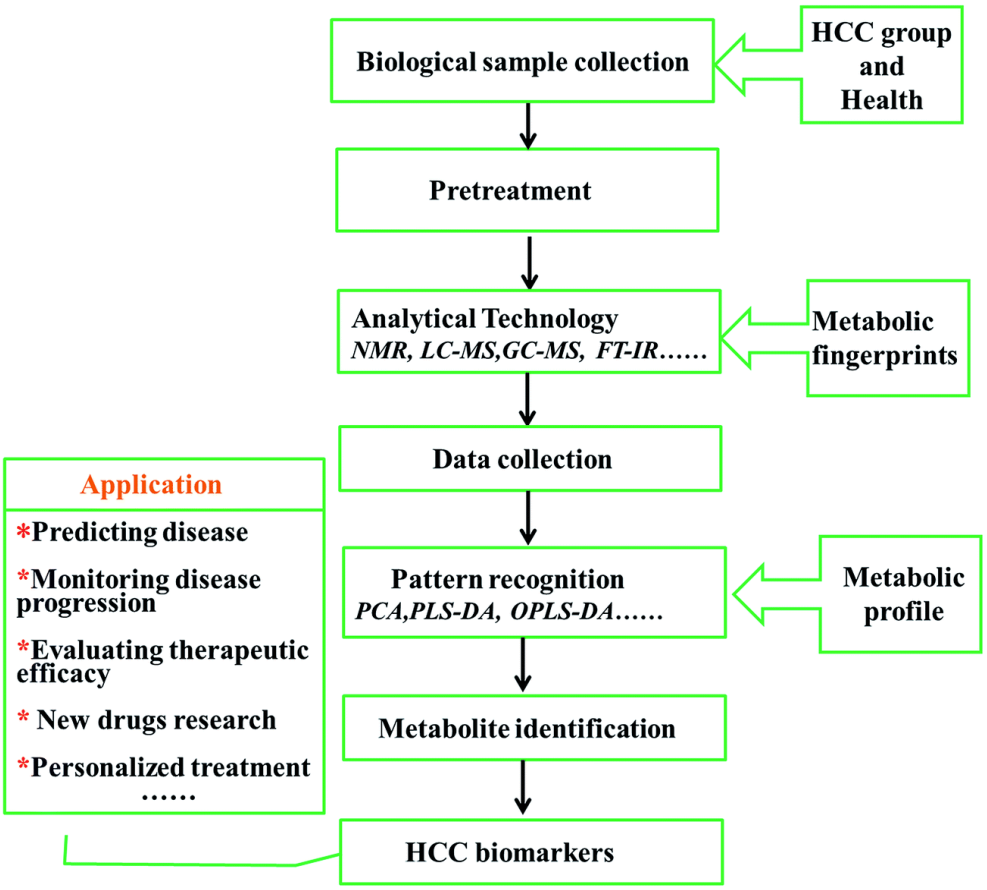
tabanlı metabolomiklerle karşılaştırıldığında, MS tabanlı metabolomikler daha yüksek duyarlılığa sahiptir; bu nedenle, genellikle çok sayıda küçük molekül incelenebilir. Bununla birlikte, bu yöntemin, ölçümlerin yüksek belirsizliği ile birlikte teknik eserler üretme şansı yüksektir. Son derece hassas, tekrarlanabilir ve uygun maliyetli bir MS analiz yöntemi olan GC-MS, işlem sırasında bozunmaya ve metabolit tanımlamasına neden olan zaman alıcı numune hazırlamayı içerir (82,83) LC-MS'nin zorluğu, daha küçük miktarlarda numune gerektirmesidir. ekstraksiyon, kurutma ve konsantrasyon dahil genel hazırlama sürecinde GC-MS'den daha fazla. Genel olarak, farklı metabolomik yöntemlerin hem avantajları hem de dezavantajları vardır; MS, daha karmaşık biyolojik numune çıkarma yöntemleri gerektirir ve NMR, daha büyük numune hacimlerinin uygulanmasını içerir (84,85). Bununla birlikte, her iki yöntem de bir fenotip veya hastalığın anlaşılmasını derinleştirmek için metabolitlerin tanımlanmasını sağlayabilir. Farklı metabolomik teknik yaklaşımlarının bir kombinasyonu, karmaşık biyolojik numunelerden kapsamlı ve yeterli metabolit bilgisinin elde edilmesini sağlayabilir (86).



Şekil 2.2. Metabolomik analizlerde kullanılan genel teknolojiler (78)

2.8.1. Hepatoselüler Karsinomda Metabolomiklere Giriş

Canlı sistemlerde dış uyaranların ve iç metabolik tepkilerin neden olduğu küçük değişiklikler, metabolit seviyelerinde büyük değişikliklere neden olabilir; metabolom, biyolojik bir sistemdeki dalgalanmanın büyüteci olarak kabul edilebilir (87). Diğer 'omikler' ile karşılaştırıldığında, metabolomiklerin avantajları, yüksek hassasiyet seviyesi ve çok sayıdaki metabolite kıyasla araştırma için nispeten daha az metaboliti analiz etme kapasitesidir. karmaşık karşılık gelen genlerin veya mRNA moleküllerinin. Klinik uygulamada, hastalık popülasyonlarındaki metabolit değişikliklerini taramak, kritik göstergeleri belirlemek için önemli bir yöntem haline geldi (88,89) Az miktarda biyolojik sıvı, metabolik durumun fonksiyonel karakterizasyonunu sağlayan sayısız metabolit içerebilir. Veritabanlarında bulunan bilgi birikimine dayanarak, HCC hastalarında biyolojik yorumlama ile belirgin metabolik bozukluklar metabolit profilleri ile tam olarak gösterilebilir. HCC klinik pratiğinde metabolomiklerin gizli özellikleri arasında biyobelirteç keşfi ve doğrulaması, hastalıkla ilgili hedef molekül keşfi, tedavi kararları ve hasta izleme yer alır (90,91). HCC'nin biyolojik özelliklerine ilişkin içgörü sağlamak için biyokimyasal profilleme sunarak, yeni ve hızla gelişen omik teknolojisi, metabolitlerdeki HCC biyobelirteçlerini araştırmak için şimdiden ümit vericidir; bu, üstün klinik deney tasarımına katkıda bulunur ve kişiselleştirilmiş ilaç araştırması için yüksek riskli grupları hastalığın erken evrelerinde ayırır (92) (Şekil 2.3). 'HCC-OMICS' çağının gelişi, hastaların uygun tedaviyi alabilmesi için patolojik mekanizmaları ve erken moleküler tanıyı tam olarak anlamak için biyobelirteçleri güvenilir bir şekilde belirleme çabasında memnuniyetle karşılanan bir gelişmedir.



Şekil 2.3. HCC biyobelirteç keşfi ve HCC biyobelirteçlerinin ana uygulamaları için bir metabolomik analiz prosedürü şeması (92)

HCC biyobelirteç keşfi ve HCC biyobelirteçlerinin ana uygulamaları için bir metabolomik analiz prosedürü şeması. PCA, temel bileşen analizi; PLS-DA, kısmi en küçük kareler-ayrım analizi; OPLS-DA, ortogonal kısmi en küçük kareler-ayrım analizi.

2.8.2. Hepatoselüler Karsinomun İncelenmesi İçin Metabolomikler

Biyobelirteçler, DNA, RNA, proteinler, peptidler ve diğer değiştirilmiş moleküller gibi biyomolekülleri inceleyerek normal veya anormal fizyolojik durumları, patojenik süreçleri ve terapötik ilaç müdahalesine verilen tepkileri objektif olarak göstermek ve açıklığa kavuşturmak için kullanılabilecek farklı özelliklere sahiptir (93) Klinik uygulamada, HCC'nin teşhisi ve prognozu için çok sayıda metabolik temelli biyobelirteç rapor edilmiştir (94). Tümör oluşumu ve gelişimi, metabolik etkilerle ilişkilidir. Şu anda artan kanıtlar, metabolizma değişikliğinin sadece bir neden değil, aynı zamanda nükleotid ve lipid sentezi ve hızlı protein taşınması için büyük

miktarlarda enerji ve substratlar gerektiren tümör hücrelerinde karsinojenezin bir sonucu olduğunu ortaya koymaktadır (95). Glikolizin HCC de dahil olmak üzere tümör hücreleri, ATP formunda enerji sağlamak yerine nükleotid sentezi için pentoz fosfat yolunda bir substrat kaynağıdır (96,97) Esasen, tümör oluşumu, enerji üretimi pahasına hücre bileşenlerinin maksimum çoğalması ile karakterize edilir. HCC tümör modellerinde bile oksijenden yoksun ortamlarda önemli bir rol oynayan hipoksi ile indüklenebilir faktörlerin metabolik fonksiyonlarını incelemek için bir çalışma yapılmıştır. Metabolik profilleme, 4-hidroksiprolinin vahşi tip hücrelerin düşük oksijen sağkalımında düzenleyici bir hedef gibi göründüğünü, fruktozun ise HIF eksikliği olan hücrelerde düzenleyici bir hedef olduğunu gösterdi (98)

HCC'de ortaya çıkan biyobelirteç keşfi, esas olarak kanserin klinik semptomlarının homojen olmaması ve siroz, kronik enflamasyon ve yağlı karaciğer hastalığı gibi potansiyel patojenik faktörlerden kaynaklanan patolojik değişiklikler nedeniyle hala çetrefilli bir konudur. HCC'ye karaciğer parankiminden oluşan hepatositler neden olur; klinik vakaların %80'inde karaciğer sirozundan kaynaklanır (99). HCC'nin ana nedeni olarak siroz, hepatosit rejenerasyonuna yol açan ve periferik fibrozlu anormal yapısal nodüllerle sonuçlanan kronik karaciğer hasarının sonucudur (100). A GC-TOFMS- hepatosellüler karsinogenezin ilerlemesinde metabolik özellikleri ayırt etmek için Random Forest (RF) analizi ile birlikte temelli bir yaklaşım uygulamaya konulmuştur. Sağlıklı kontroller (NC), hepatit B virüsü (HBV) ve karaciğer sirozu (LC) serum numuneleri ile karşılaştırıldığında, hepatoselüler karsinojenezdeki metabolik bozukluklar, enerji metabolizması, makromoleküler sentez ve tümör hücrelerinin oksidatif stresten korunması ile ilişkilidir (101) Prekanserözde HCC döneminde karbonhidrat metabolizmasından lipid ve amino asit metabolizmasına dönüşüm olurken, sirozda daha ileri metabolik yolaklarla inflamasyonun şiddeti artar; bu farklı metabolitler incelenmiştir. D-glikoz ve d-mannitol düzeylerindeki en önemli değişiklikler, kronik inflamasyon ile HCC'nin patogenezi arasındaki ilişkiyi açıklayan HCC gelişim aşamasında gözlenmiştir (102). Yüksek riskli bireylerin ve HCC'nin metabolik profillemesi, tespit etmek için uygulanmıştır. serum metabolitlerinin çoklu analizi kullanılarak HCC'nin erken teşhisi için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip serumdaki yeni biyobelirteçler (103). Bir çalışma, HCC başlangıcıyla ilişkili dallı zincirli amino asit (BCAA) metabolizması dengesizliklerini gösteren faydalı

biyobelirteçler tanımladı. LC hastalarıyla karşılaştırıldığında, HCC hastalarında glutamik asit, sitrik asit, laktik asit, valin, izolösin, lösin, alfa tokoferol, kolesterol ve sorboz seviyelerinde önemli dalgalanmalar vardı (104). HCC değerlendirmesinde metabolik değişikliklerin çoklu metabolomik platformlarla incelenmesi, şunları sağlayabilir: patogenez mekanizmasının belirlenmesi. Sağlıklı kontrollerin ve HCV hastalarının tüm serum metabolitlerinin GC/MS ve UPLC/MS-MS analizi, 12-hidroksieikosatetraenoik asit, (12-HETE), 15-HETE, sfingosin, ksantin, serin, glisin amino asitlerinin düzeylerinde artış olduğunu göstermiştir. ve aspartat, asilkarnitinler ve γ-glutamil oksidatif stres ile ilgili bazı metabolitler, anormal amino asit biyosentezi, hücre regülasyonu ve nötralizasyon reaksiyonlarının yanı sıra HCC hastalarının metabolizmasında meydana gelen eikosanoid yolakları gösterir (105). Ek olarak, 32 potansiyel biyobelirteç tanımlanmıştır HCC hastalarının, LC hastalarının ve sağlıklı gönüllülerin serumunda, randomize orman (RF) analiziyle birleştirilmiş NMR ve LC/MS tabanlı yöntemlerle; AFP değeri 20 ng mL-1'in altında olan hastalarda da HCC tam olarak saptanabilmektedir. HCC'nin neden olduğu metabolik bozuklukların, HCC hastalarında keton biyosentezi, sitrik asit döngüsü, fosfolipid metabolizması, sfingolipid metabolizması, yağ asidi oksidasyonu, amino asit katabolizması ve safra asidi metabolizmasıyla ilgili olduğu bulundu (106). Anormal lipid metabolizması düzenlemesi, metabolik sendrom hastalarında HCC'ye hastalık patolojisi (107). Lojistik regresyon analizi ile birlikte LC-MS'ye dayalı bir steroid hormon metabolomik yöntemi kullanılarak, epitestosteron ve allotetrahidrokortizolün bu hastalıkta çok erken dönemde değiştiği bulundu; Bu yöntem, steroid hormon ağının şiddetli türbülansı ve büyük ölçüde azalmış üriner steroid hormon seviyeleri olmak üzere en yüksek oranda temsil edilen değişikliklerle mükemmel teşhis kabiliyeti sergilemiştir (108). Fenilalanin, tirozin, glutamat ve triptofan gibi spesifik AA'ların şu şekilde olduğu bulunmuştur: kinurenin ve biyojenik aminlerin yanı sıra, HCC gelişimine işaret edebilir (109). Aspartat metabolizması, insan doku ekstraktlarının metabolomiklerine dayanan NMR ve MS çalışmalarına göre, tümör olmayan karaciğerlerle karşılaştırıldığında HCC'nin özellikle önemli ve ayırt edilebilir bir metabolik yoludur (110). Düzenleyici Wnt sinyal yolu ve HCC ile ilgili çoklu asil-lizofosfatidilkolin metabolitleri dahil olmak üzere birçok metaboliti bozmak, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığından HCC'ye patofizyolojik süreci netleştirmek için gereklidir (111). Sıvı kromatografi-hibrit üçlü dört kutuplu

lineer iyona dayalı metabolomik yöntemlerin geliştirilmesi tuzak kütle spektrometresi (LC-QTRAP/MS) ve c kılcal elektroforez-uçuş süresi kütle spektrometresi (CE-TOF/MS) ve ayrıca değiştirilmiş k-TSP algoritmaları ve triptofan, glutamin ve 2-hidroksibütirik asit içeren bir 'serum biyobelirteç modeli', metabolitlerin diferansiyel keşfinin anlaşılması için faydalıdır.

2.9. Aminoasitler

Amino asitler proteinlerin başlıca yapı taşlarıdır ve doğada yaklaşık 300 çeşit amino asit olmasına rağmen tüm canlılar, 20 amino asiti ve bazen değişiklik gösteren türlerini yapı taşı olarak kullanmaktadır. (112). Proteinlerin yapısındaki tüm amino asitler α türündedir ve glisin dışında L-konfigürasyonuna sahiptirler (113,114). α-Amino asitlerin α karbonuna bir amino grubu (-NH2), bir hidrojen atomu (H), karboksil grubu (-COOH) ve bir yan zincirden (R grubu) meydana gelirler. Amino (–NH2) grubu α-karbon atomuna (karboksil grubunun ardından gelen ilk karbon atomu) bağlandığı zaman α-amino asit adını almaktadır. Glisin dışındaki bütün amino asitlerde asimetrik karbon atomu vardır ve glisinde ‘’R'' ile temsil edilen grup bir H atomudur (112). Aminoasitler birbiriyle arada kurdukları kovalentpeptid bağlar varlığında uzun makromoleküllere dönüşüp proteinleri oluştururlar. Kimyevi yönden proteinler, yüksek moleküler ağırlıklı, azotlu bileşikler olup amino asitler arası kovalentpeptit bağlarla oluşmuş polipeptit zincir veya zincirlerin 3 boyutlu sekonder veya tersiyer yapılar oluşturarak şekillenmiş biyolojik moleküllerdir (115).

Vücut dokularında mevcut moleküller kullanılarak üretilmesi mümkün olmayan amino asitlere ‘Esansiyel amino asitler’ denir ve vücudumuzun esansiyel amino asitlere ihtiyacının besinler yoluyla karşılanması gerekmektedir. Esansiyel olan bu amino asitler; lisin, metiyonin, lösin, izolösin, fenilalanin, Triptofan, valin ve treonindir. Bazı aminoasitler organizmada sentezlenebiliyorken de vücut bu amino asitlere ihtiyaç duyabilmekte ve bu ihtiyaç üretimden karşılanamamaktadır. Bu tür aminoasitlere de yarı esansiyel denilmektedir. Bunlara olan ihtiyaç hem besin yoluyla hem de biyosentezle giderilmektedir. Yarı esansiyel amino asitler; tirozin, arjinin ve histidin olarak örneklenebilir (115-117). Vücutta başka bileşenler ya da esansiyel amino asitler kullanılarak biyosentez yoluyla ihtiyaç kadarı elde edilebilenlere ise esansiyel olmayan

aminoasitler denir. Esansiyel olmayan aminoasitler; glisin, sistein, glutamat, aspartat, serin, alanin, oksiprolin ve prolindir(115-117).

2.10. Aminoasitlerin Sınıflandırılması

Doğada en az 300 amino asit formu olduğu bilinmektedir. Fakat bu amino asitlerin sadece 20 tanesi proteinlerde yer almakta ve miktarca diğerlerinden daha fazla bulunmaktadır. Tüm canlıların yapısında bulunan proteinlerin yapı birimleri de hep aynıdır ve bunlar α- amino asit yapısındadırlar (118). Aminoasitlerin yapısındaki R-grubu (değişken grup) amino asit çeşitlerinin ortaya çıkmasında etkilidir. Dolayısıyla aminoasitlerin özellikleri R- grubu farklılaştıkça değişmekte ve aminoasitler yan zincirlerine göre sınıflandırılmaktadır. Amino asitlerin değişken R-gruplarıyla polaritelerine göre ya da fizyolojik pH'ta suyla reaksiyon verme eğilimlerine göre beş temel sınıfa ayrılmaktadırlar. R- gruplarının polaritesi nonpolar ya da hidrofobiklikten yüksek oranda polar veya hidrofilikliğe kadar birçok çeşitlilik göstermektedir (112).

Aminoasitlerdeki R gruplarının çözünürlüklerine, iyonizasyon ve polaritelerine göre aminoasitler beş ana sınıfta ayrılmaktadırlr. Non-polar alifatik amino asitler: Glisin, lösin, valin, alanin, izolösin bu gruptadırlar. Bu amino asitlerdeki alifatik yan zincirler hidrofobik özelliktedir. Valin, lösin ve izolösinaminoasitleri de dallı zincirlidir. Başka bir gruba dahil edilemeyen prolin ve onun modifiye versiyonu hidroksiprolin de bu gruba dahil edilebilmekte. (119).

2.10.1. Polar Olmayan Alifatik R Grupları

Polar olmayan amino asitler; lösin-izolösin, valin, alanin ve glisindir. Bu amino asitler alifatik yan zincirlerlere sahip olduklarından hidrofobiktirler. Ayrıca bunlardan Valin, lösin ve izolösin aminoasitleri dallı-zincirli grubu olarak ayrılabilir. Farklı gruba dahil edilemeyen prolin ve hidroksiprolin ise bu gruba dahil edilebilmektedir. Non-polar aminoasitlerin alifatik bir yan zincirleri ve sekonder bir amino grupları vardır (120).

Glisin (Gly/G): Glisin (Gly/G) proteinlerdeki 20 çeşit aminoasit türü arasından en basit olanıdır. Yan zincirinde yalnızca bir H atomu vardır. Glisinin'in α-karbon atomuna bir

hidrojen bağlı olduğundan optik olarak aktifliği söz konusu değildir yani optik bir izomeri de yoktur (121). Glisin MSS'de inhibitör etkisi gösteren bir nörotransmitter moleküldür. Vücutta dokularca hayati işlevlere yetecek kadar üretilebildiğinden dolayı besin alımıyla da dışarıdan alımı gerekli değildir (122).

Alanin (A/Ala): Alanin (Ala, A) vücutta fazla miktarda bulunan bir amino asittir ve proteinlerin yapısının yaklaşık %8'i alanin aminoasitini barındırır. Alanin, piruvatın indirgeyici aminasyonu reaksiyonuyla üretilmekte ve vücut kimyasında önemli görevlerde rol oynamaktadır. Ayrıca, kas doku direncinde, MSS'ne gerekli enerjinin kazanılmasında da rol oynamaktadır. Kısacası vücutta glikozun enerjiye dönüşümünde, karaciğerde biriken toksinlerin eliminasyonunda yardımcı rol üstlenmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda da farelerde kolesterol düşürücü bir etkisi olduğu da gözlemlenmiştir (123,124).

Valin (V/Val): Valin (Val, V) adını valerian bitkisinden alan bir esansiyel olan ve de dallı zincirli olan bir amino asittir. Valin, kas bütünlüğünü korumada yardımcı olan bir aminoasittir. Triptofanın kan-beyin bariyerini geçmesine engel olduğu ve bu sayede sinir sistemi ve bilişsel fonksiyonlar açısından önemli bir aminoasittir. Ayrıca vücudun günlük işlevlerinde ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde yine büyük önemi vardır (125,126).

Lösin (L/Leu): İnsanlarda DNA'da kodlanan bir aminoasittir. İzolösin ve lösin birbirlerinin izomeridir. Lösin, protein biyosentezi ve diğer metabolik fonksiyonlar için oldukça önemli olupkan şekerinin düzeyinin ayarlanmasında, kas-kemik büyümesi ve gelişmesinde önemli rolü vardır. Diğer aminoasitlerden farklı olarak, kas proteinlerinin ayrılıp kas yapımını ve kas kitlesini artırmayı desteklemesi ve yağ yakımına da yardımcı olmasıdır (126,127).

İzolösin (I/Ile): Lösin gibi DNA'da kodlanan bir amino asittir ve tüm proteinlerin yapısında yer alabilir. Her ne kadar Lösin ile izomer olsa da kimyasal bağları ve fiziksel özellikleri Lösin'den farklıdır. İzolösin, enerji seviyelerini artırır, Hemoglobin biyosentezinde, kan şekeri ve enerji seviyelerinin regülasyonunda önemli rol oynar.

Yapılan çalışmalarda üç dallı zincirli amino asitin (valin, lösin, izolösin) insanlardaki anabolizma fonksiyonlarının uyarılması için oldukça önemli oldukları tespit edilmiştir (126,128).

Prolin (P/Pro): Tüm aminoasitler primer amin grubuna sahipken; Prolin'in yan zincirinde üç karbon atomu halka halinde nitrojene bağlıdır ve bu nedenle primer amin grubu yoktur. Prolinin yapısındaki azot bu sebeple sekonder amin grubu olarak kabul edilmektedir. Prolin, kalp kasının korunması ve güçlendirilmesi için destek sağlamaktadır. Ayrıca kollajen sentezinde ve aterosklerozun azaltılmasında da rol oynamaktadır. Prolinin eksikliği vücutta yumuşak dokularda yırtılmalara ve normal iyileşme sürecinde yavaşlamaya neden olmaktadır (126).

2.10.2. Aromatik R Grupları

Bu grupta fenilalanin, tirozin ve triptofan vardır. Bu amino asitlerin diğerlerinden farkı UV ışığa yakın dalga boylarında soğurmaya neden olmalarıdır.

Fenilanin (F/Phe): Esansiyel aminoasittir ve vücutta biyosentezi yoktur. Bu yüzden ihtiyaç kadarı besinlerden elde edilmelidir (129). Adrenalinin öncülü olan tirozinin prekürsörüdür. Bu sayede sentezlenen adrenalin, hafızanın uyarılması, zihnin uyanıklığı, iştah bastırılması ve ruh halinin regülasyonu ve diğer işlevlerden sorumlu nöradrenalini üretmek için kullanılan bir nörotransmittere evrilir. Fenilalanin yetersizliği nedeniyle oluştuğu düşünülen dikkat ve hafıza sorunları, enerji yoksunluğu, depresyon, iştahsızlık, konfüzyon ve uyuşukluk hali vb süreçlerin tedavisinde tavsiye edilmiştir (126,130).

Tirozin (Y/Tyr): genellikle doğada L-formunda bulunan ve pek çok proteinin yapısında yer alan non-esansiyel bir α aminoasittir. Nörotransmitterler için bir öncül olup nörotransmitterlerin seviyelerini artırıcı etkiye sahiptir. Bu özelliğiyle kullanımı depresyonda ve cinsel isteği uyarmakta çokça tercih edilmektedir. Yapılan bazı araştırmalar stresli, yaşlı veya yorgun bireylerin tirozinin seviyeleri düşük ölçüldüğünü göstermiştir. Tirozin, stresi ve kaygıyı azaltmada etkili olduğu ispatlanmış ve hastaları normallerinden daha fazla uyanık tuttuğu saptanmıştır (126).

Triptofan (W/Trp): Esansiyel bir amino asit olan Triptofan, birçok enzimin, yapı proteininin, melatoninin, serotoninin ve diğer nörotransmitterlerin yapısında ve sentezinde yer almaktadır. Ayrıca uyku bozukluğu, depresyon ve kaygı bozukluğu gibi bazı hastalıklarda tedavilere yardımcı olmak için sıkça alternatif olarak kullanılmaktadır. Triptofanın, ruh halinin düzenlenmesinde de önemli bir rolü olan bir nörotransmitter olan serotoninin üretiminde büyük etkiye sahiptir (126,129).

2.10.3. Polar, Yüksüz R Grupları

Polar yükü olmayan R gruplu amino asitler: metiyonin, sistein, serin, treonin, glutamin ve sistindir. Bu aminoasitlerin suyla hidrojen demetlerini oluşturabilen fonksiyonel grupları (sistein/metiyonindesülfhidril grubu (-SH), serin/treoninde hidroksil grubu (-OH), asparaginde/glutamindeamid gruplarıdır) vardır.

Serin (S/Ser): Non-esansiyel olan Serin, ayrıca sistein-glisin gibi bazı aminoasitler için de öncül olup çoğunlukla L-formundadır. İşlevleri arasında en önemli olanı; organizmadaki tüm hücrelerin inşası için gerekli fosfolipitlerin yapısına katılmasıdır. Ayrıca Serin RNA ve DNA işlenmesinde, kasların yapılaşmasında ve korunumunda yardımcı olan kreatinin emilimine yardımcı olup aktif bir bağışıklığın devamını sağlamakta ve sağlıklı bir immün sistem için immünoglobulin üretimin de rol almaktadır (126).

Treonin (T/Thr): Esansiyel bir aminoasit olan Treonin, kardiyovasküler sistem, sinir sistemi ve bağışıklık sisteminde ve karaciğerin işlevlerinin devamının sağlanmasında önemli roller oynamaktadır. Kemik ve diş minesinin sağlamlaştırılmasında, travma yada cerrahi operasyon sonrası bağışıklığın güçlenmesinde, yara onarımının hızlanmasında önemli yeri vardır. Araştırmacılar treonin destek tedavisinin ayrıca MS semptomlarının hafiflemesine katkı sağladığını saptamışlardır (126).

Sistein (C/Cys): İmmün sistemin güçlenmesinde ve lenfosit aktivasyonunda önemli rolü olan sistein, aynı zamanda antioksidan üretiminde ve detoksifikasyonda da önemli

bir amino asittir. Bunların dışında radyasyonun ve toksinlerin zararlı etkilerinden korunmada da rol oynamaktadır (126).

Metiyonin (M/Met): Esansiyel olan Metiyonin yağ metabolizmasını hızlandıran bir amino asittir. Geçmişteki çalışmalar, Metiyoninin karaciğer hastalıklarında, iltihabi hastalıklarda, depresyonda ve bazı kas hastalıklarında iyileştirici bir özelliği olduğu saptanmıştır. Ayrıca östrojenin etkisini azaldığı hastalarda vücuttaki östrojen seviyesinin progesterona nazaran daha da yükselttiği gözlemlenmiştir (127,128).

Asparajin (N/Asn): Yan zincirinde karboksi-amid grubu olan polar olup fizyolojik ortamda yüksüz olan bir amino asittir. L-Asparajin, MSS dengesinin korunmasında ve de nörotransmitterlerin yapısında yer alan bir aminoasittir. Glikoproteinlerin biyosentezinde kilit rol oynayan Asparajin, eksikliğinde; depresyona, konfüzyona ve başağrısı vb belirtilere sebep olabilmektedir (127,128).

Glutamin (Q/Gln): Yan zincirinde karboksi-amit grubu olan Glutamin, polar olmasına rağmen fizyolojik pH'ta yüksüz bir aminoasittir. Kan şekerinin regülasyonunda ve gerekli pH aralığının stabilizasyonunda da görevlidir. Glutamin, hücrelerin çabucak prolifere olup enerji kaynağı olarak ve nükleotid sentezi için optimal şartları sağlamak amacıyla hızlıca kullanır (127,128).

2.10.4. Pozitif Yüklü R Grupları

Histidin, arginin ve lizinden oluşan bu aminoasitler bazik hidrofilik yan zincirlere sahiptirler. Özellikle argininin ve lizinin bazik özelliği daha fazladır.

Lizin (K/Lys): 4-aminobütil (birincil amin) yan zinciri olduğundan bazik amino asittir. Lizin; vücutta bilhassa kalsiyum emilimi ve kas proteinlerinin oluşumunda önemli roldedir. Operasyondan ya da travma oluşumundan sonra kısaca vücut bütünlüğünün bozulduğu durumlarda metabolizmanın hızlıca toparlamasına yardımcı olmakta ve hormonların, enzimlerin ve antikorların biyosentezlerinde yardımcı rolleri vardır (112). Ayrıca Lizin, yağ asitlerinden enerji elde edilmesinde ve kolesterol seviyelerinin

düşürülmesinde major etken karnitinin biyosentezinde öncül olarak yer almaktadır. Lizin eksikliğinde bedende yorgunluk, bulantı, büyümenin yavaşlaması, baş dönmesi ve hatta üreme fonksiyonlarında bozulma vb belirti ve bulgular görülebilir (131).

Arjinin (R/Arg): vücutta pek çok fizyolojik rolü olan ve oldukça gerekli bir aminoasittir. Hormon biyosentezinde ve salınımında, büyüme hormonunun etkinliğinde artışta, toksik atıkların detoksifikasyonunda ve vücuttan uzaklaştırılmasında ayrıca bağışıklık sisteminin defansında ve bir çok önemli süreçlerde rolü vardır (132). Ayrıca kan damarlarında dilatasyonu sağlayan nitrik oksit için bir öncüldür. Genel olarak hipertansiyon, kardiyak işlev bozukluğu ve cinsel fonksiyon bozukluğu gibi bazı hastalıklarda tedavide tercih edilebilmekte ve de her iki cinsiyette infertilite tedavisinde yer almaktadır (133). Son zamanlarda, arjinin bakımından zengin medikal olmayan takviyeler arjininin nitrik oksit üretimi, serbest radikal temizlenmesi, kas hücre demetlerinin uyarılması, GH salgılanması, LDL kolesterolun azaltılması ve yağ metabolizmasının hızlandırılması gibi amaçlar için kullanılmakta ve ünü yaygınlaşmaktadır. Ayrıca Arjinin vücuttaki tuz seviyelerini düzenlenmede de yardımcıdır (127,128).

Histidin (H/His): L- ve D- enantiomeri olan Histidin, yetişkinlerde normal şartlarda yeterli miktarda üretebildiğinden genel olarak sadece çocuklar için yarı esansiyel sayılmaktadır. Histidin, alerjik reaksiyon ve durumlarda immün sistemin elemanları tarafından salgınan bir kimyasal olan histaminin öncüsüdür. Ayrıca enzim, metal ve antioksidan içeren SOD vb yapıların da oluşumunda bir öncül görevi görür (127,128).

2.10.5. Negatif Yüklü R Grupları

Negatif yüklü aminoasitler; glutamat ve aspartat'tır. Yapılarındaki sekonder karboksil grubundan (-COOH) dolayı fizyolojik pH'ta negatif yüke sahiptirler.

Aspartat (D/Asp): toksik etkili olan amonyağın vücut dışına atılmasında yardımcı rol oynar. Ayrıca vücuttaki enerji döngüsünde rol oynamaktadır. Araştırmalarda, aspartatın dayanıklılık ve yorgunluğa direnç vb durumlara katkı sağladığını göstermiştir. Aspartat, transaminasyon tepkimelerine, ornitin döngüsüne, pirimidin, pürin ve karnozin sentezine de katılmaktadır. Güncel çalışmalarda Aspartatın hem RNA hem de DNA'nın işleyişine, immün sistemin antikor sentezine destek olarak bağışıklık sisteminin güçlenmesinde önemli bir yere sahip olduğu bildirilmiştir. Aspartat, bu görevleri sağlam RNA ve DNA sentezi için gerekli minerallerin taşınmasını uyararak, immünoglobulin ve antikor sentezlerini uyararak yerine getirmektedir (127,128).

Glutamat (E/Glu): glutamat, sinir hücrelerinde uyarımını artıran bir stimülan nörotransmiterdir. Glutamat; bilişsel aktivitenin geliştirilmesinde, uyanıklık ve mod üzerinde etkili olan bir nörotransmitter amino asittir. Bu amino asit ayrıca zekâ geriliği, şizofreni, Parkinson gibi mental; yorgunluk, kas distrofisi gibi fiziksel patolojik durumlarda ve alkol toksikasyonnun tedavisine yardımcı olarak da kullanılabilmektedir. Ayrıca, BOS'a potasyum taşınmasına da yardımcı olduğu düşünülmektedir (126).

2.11. Amino Asit Metabolizması

Amino asitlerin vücuda girişi üç yolla sağlanmaktadır: besin yoluyla, var olan proteinlerin metabolik yıkımlarıyla ve endojen biyosentez. Yüksek gelişmiş organizmalarda amino asitlerin bazısı sentezlenebiliyorken bazısı da de-novo sentezlenebilmektedir. Bu tür aminoasitler, non-esansiyel (esansiyel olmayan) veya endojen amino asitler olarak tanımlanmaktadır. Biyosentezi mümkün olmayan ve besinlerle alınması gerekli olan amino asitler ise esansiyel (eksojen) amino asitler olarak tanımlanmaktadır. Esansiyel amino asitler; Fenilalanin, Metiyonin, Lösin ve İzolösin, Triptofan, Valin, Treonin ve Lizin'dir (134).

Piruvat ve sitrat döngülerinin ara elemanları glikoneogenezle glukoza dönüştürüldüklerinden bunları oluşturan aminoasitler glikojenik ya da glikoplastik amino asitler olarak anılmaktadır. Bunlar; Arginin, Metiyonin, Prolin, Glutamik Asit ve Glutamin, Histidin, Aspartik Asit ve Asparagin, Treonin, Serin, Valin, Glisin, Sistein ve Alanindir. Benzer bir durum olan asetil KoA ve asetoasetat üzerinden yağa dönüşen amino asitlere de ketoplastik ya da keojenik amino asitler denilmektedir. Bunlar; Lizin ve Lösindir. Bunların yanısıra hem glikojenik hem de ketojenik özellik gösteren amino asitlere örnek olarak; Fenilalanin, İzolösin, Triptofan ve Tirozin amino asitleri örnek verilebilir (120,134).

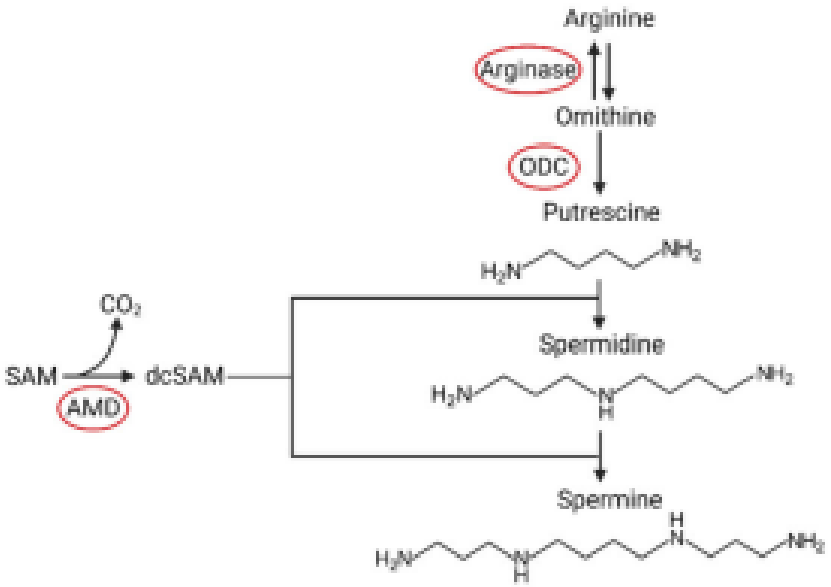
2.12. Kanser ve Aminoasitler

Kanser günümüzde en yaygın ve en zararlı hastalıkların başında gelen ve vücuda kolayca hızla yayılabilen bir hastalıktır. Tümörün gelişimi insanlarda ve hayvanlarda vücut metabolizmasıyla sıkı bir ilişkidedir (135,136). Kanserde görülen kaşeksi temelde vücudun protein kitlesinde kanser metabolizmasının sebep olduğu ciddi kayıpların oluşumundan kaynaklanmaktadır. Kas-iskelet kütlesindeki bu azalma yaklaşık olarak %75'leri bulabilmektedir (137). Malignitelerin varlığında genel olarak glukoneogenezde azalma, azot dengesinde bozulma, kas protein birleşiminde ve kas protein yıkımında artma gibi pek çok metabolik değişimler gelişmektedir (138-142). Sonuçta protein yapım ve yıkımı tümörogenez sırasında giderek artış gösterir (143,144). Tümör varlığında gelişen değişimlerin hastalardaki plazma amino asitlerince yansıdığı düşünülmektedir (145). Buna dayanarak, plazma amino asit profilinin kanser ilişkili protein metabolizmasının bir projeksiyonunun sağlanması için marker olarak kullanılabileceğine dair farklı araştırmalar yapılmış ve sürdürülmektedir (119,136,138).

2.13. Tümörle İlişkili Amino Asit Türevleri

Amino asit katabolizması, tümör hücresi büyümesini ve hayatta kalmasını etkileyen metabolik ara ürünler üretir. Poliaminler (putrescine, spermine ve spermidin), tümör proliferasyonunu ve agresifliğini destekleyen en iyi bilinen metabolitler olabilir (146). Poliamin sentezi, argininin ornitine dönüşümünden arginazın etkisiyle başlar, bu

daha sonra hız sınırlayıcı adım enzimi ornitin dekarboksilaz (ODC) tarafından putresin üretmek için dekarboksillenir (Şekil 2.4). S-adenosilmetiyonin dekarboksilaz (AMD) (147). tarafından katalize edilen dekarboksillenmiş S-adenosilmetionin, daha sonra sırasıyla spermidin ve sperminin oluşumu için propil amin kısmını putrescine ve spermidine bağışlar (Şekil 2.4) (140). Kanserli hastalarda yüksek poliamin seviyeleri gözlenmiştir. İdrar ve plazmadaki poliaminler ve metabolitleri, hem kanser teşhisinde hem de akciğer ve karaciğer kanserlerinde tümör ilerlemesinin belirteçleri olarak yararlı olabilir (149,150). Poliaminler, kısmen spesifik gen ekspresyonunu transkripsiyonel olarak düzenleyerek tümörijenezdeki çok sayıda süreci etkiler. Fizyolojik pH değerinde yüklü katyonlar olarak, poliaminler nükleik asitlerle birleşebilir (151), bu da genel kromatin yapısını (152) ve spesifik DNA-protein etkileşimlerini (153) etkileyerek gen transkripsiyonu üzerinde etkilere yol açabilir. Poliamin aracılı gen düzenlemesinin transkripsiyon sonrası yönleri, ekspresyonu/işlevi birçok kanser için olumsuz prognostik etkilerle güçlü bir şekilde ilişkili olan ökaryotik çeviri başlatma faktörü 5A (eIF5A) ile ilişkilidir (154-156). Lizin kalıntısı 50'nin benzersiz bir eIF5A post-translasyonel modifikasyonu olan spermidin türevi amino asit hipusin, eIF5A fonksiyonları (157) için gereklidir. Poliaminler aynı zamanda bir poliamin-RNA kompleksi (158) olarak da mevcuttur. RNA'ya poliamin bağlanması, protein sentezinin etkinliğini uyaran ve artıran yapısal değişikliklere yol açar.

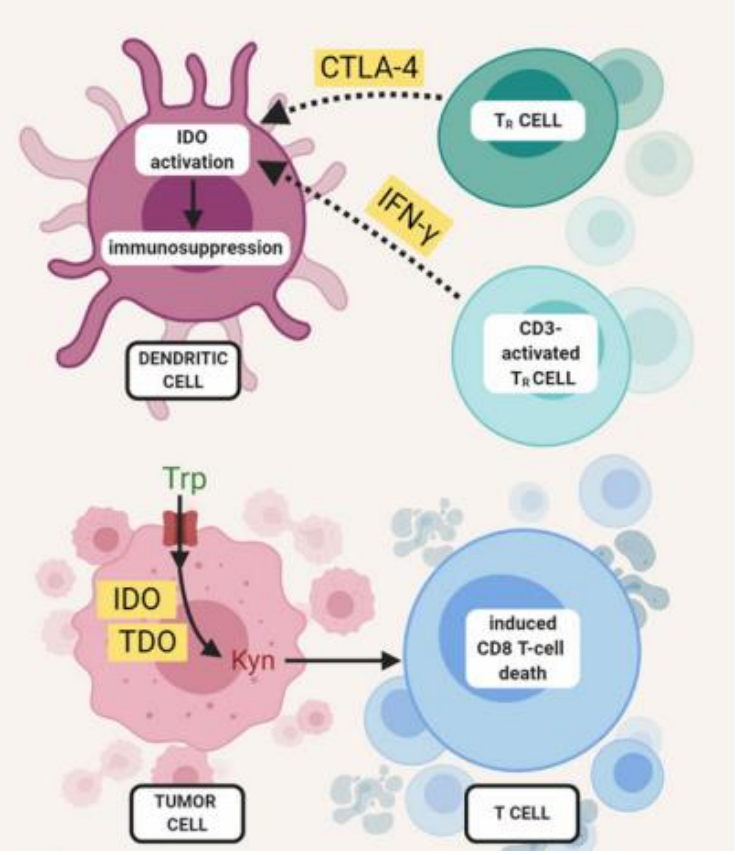


Şekil 2.4. Poliamin sentezi

Poliaminler (putresin, spermin ve spermidin), amino asit argininden sentezlenir ve birbirlerinden dönüştürülürler (putrescine, spermidine ve spermine sırasına göre). dcSAM'ın öncüsü olan SAM, poliamin yapılarının inşası için ana donördür. Anahtar enzimler kırmızı daire içindedir. ODC ornitin dekarboksilaz, AMD S-adenosilmetionin dekarboksilaz, SAM S-adenosilmetionin, dcSAM dekarboksilatlı Sadenosilmetionin.

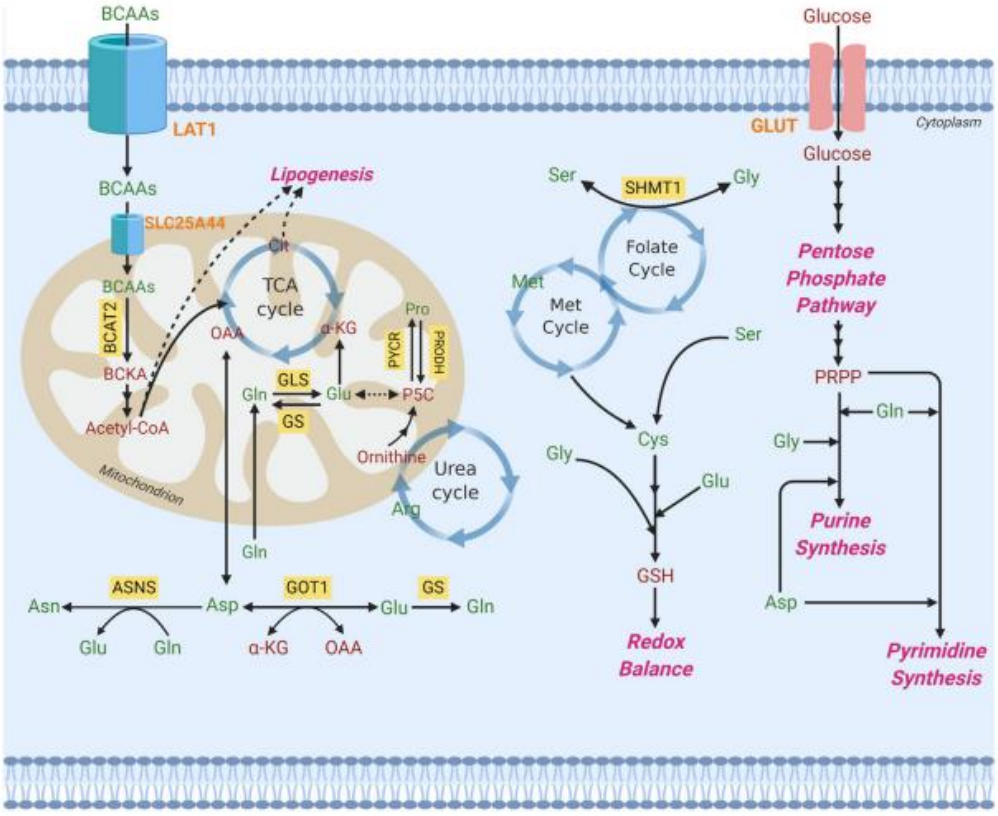
Nitrik oksit (NO), arginin katabolizmasının başka bir metabolik sonucudur. Zamanlamasına, konumuna ve konsantrasyonuna bağlı olarak hem tümör baskılayıcı hem de tümör destekleyici etkilere sahiptir (159). Artan anjiyogenez ve tümörlere karşı konakçı bağışıklık tepkisini sınırlama dahil olmak üzere birçok mekanizma yoluyla tümör büyümesini destekler. Bununla birlikte, kaspazları aktive ederek ve tümör baskılayıcı p5378'i yukarı doğru düzenleyerek tümör baskılayıcı bir molekül olarak da işlev görebilir. Bu nedenle, kanserin önlenmesi ve tedavisi için NO tabanlı stratejiler geliştirmek için NO biyolojisinin daha iyi anlaşılması ve moleküler ve klinik çalışmalarla daha fazla doğrulama yapılması gerekmektedir.

Kynurenine, triptofandan triptofan 2,3-dioksijenaz (TDO) ve indoleamin 2,3-dioksijenaz (IDO) (160) tarafından katabolize edilen tümörle ilişkili bir metabolittir. Hodgkin lenfoma, akciğer kanseri ve yumurtalık kanseri (161-163) dahil olmak üzere çeşitli tümörlerde artan bir kinürenin/triptofan oranı gözlenmiştir. Kynurenine'nin önemli rolü, antitümör immün yanıtlarını baskılama kabiliyeti ile bağlantılıdır. Tümörlerden salgılanan kinurenin, sitotoksik CD8 T-hücresi ölümüne neden olarak, metastaz10sırasında immün kaçışı arttırır. Daha da önemlisi, kinurenin aracılı immünosupresyon, kanser hücreleri ve immün hücreler arasındaki çapraz konuşma ile sınırlı değildir (Şekil 2.5.). Farklı bağışıklık hücreleri içindeki iletişim de kinurenin sentezini düzenler (164,165). Düzenleyici T (TR) hücreleri, DC'lerde IDO'yu etkinleştirerek DC'leri CTLA-4 (dinlenme TR hücreleri) veya IFN-y (CD3 ile aktive edilmiş TR hücreleri) yoluyla tolerans indüksiyonu için hazırlar (Şekil 2.5) (164,165). Terapötik pencereleri genişletmek için immünometabolik adjuvanlar olarak, IDO inhibitörleri sadece immüno-onkoloji modalitelerini değil, aynı zamanda geleneksel kemoterapi ve/veya radyoterapiyi de kullanabilir.



Şekil 2.5. Prolin aşağı akış metaboliti (15)

1-pirolin-5-karboksilik asit (hidroksiprolin olarak da bilinen P5C), tümör agresifliği için çıkarımlara sahiptir. Hidroksiprolin, TCA (glutamat ve α-KG) ile üre döngüsü (ornitin) arasında doğrudan bir köprü sağlar (Şekil 2.6) (166). Hepatoselüler karsinom (HCC) klinik patogenezi ile ilişkilidir 84. Mekanik olarak, hipoksik mikro ortamlar prolin metabolizmasını aktive ederek HCC tümör ilerlemesini destekleyen ve hipoksi ile indüklenebilir faktör 1-alfa (HIF1α) (167) modüle ederek sorafenib direncini indükleyen hidroksiprolinin birikmesine neden olur.



Şekil 2.6. Metabolik yollardaki amino asitler (166)

2.14. Karnitin

L-Karnitin (3 -hydroxy-4 -N-trimethyl ammonio butaonate) canlılarda pek çok farklı dokuda fizyolojik doğal seyirde sentezlenebilen ve hücre sitoplazmasından mitokondrinin matriksine taşınacak olan uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondrinin içteki membranından geçişinde görevli amino asitlere benzer bir organik moleküldür (168-170). Hidrofilik yapılı ve molekül ağırlığı düşük olup, ilk defa 1905'te Rusya'lı Gulewitcsh ve Krimberg adlı bilim insanlarınca kas dokusundan izole edilip "carnis" (Latince'de et anlamında) kelimesinden ilhamla adına "karnitin" denmiştir. Carter ve ekibinin yaptığı bir çalışmadaysa 'Tenebrio molitor'isimli un kurtçuklarının büyümesinde gerekli olan bir yapı olduğu düşünüldüğünden vitamin benzeri bir etki gösterdiğinden o zamanlar vitamin BT olarak ayrıca adlandırılmıştır (171).

Periferal dokular için karnitin,en önemli görev olarak uzun zincirli yağ asitlerini, p-oksidasyonla oksidatif fosforilasyonun ardından, ATP sentezi için mitokondrinin iç membranından geçirmeyi üstlenir (172). Bu nedenden enerji ihtiyacını karşılama adına

bilhassa yağ asidi tercih eden dokular için karnitin esansiyel bir temel metabolik gereksinimdir (173).

Karnitinin besinler arasında pek çok kaynağı vardır;başta kırmızı et ve süt ürünleri ve diğer hayvansal gıdalar birer karnitin kaynağıdır. Bitkisel olan gıdalar hayvan kaynaklı besinlere nazaran karnitinden fakirdir (174). Bu durum vejetaryenlerde endojen karnitin biyosentezinin ne kadar önemli olduğunu ortaya koyar (175). Organizmada karnitin, lizin ve metiyonin esansiyel aminoasitlerinden sentezlendiğinden normal beslenmede esansiyel bir biyomolekül olmamasına rağmen karnitinin dokulardaki konsantrasyonu diyetle alınan miktara bağlı olarak değişir (175).

2.14.1. Karnitin Biyosentezi ve Metabolizması

Yağ metabolizmasında ve enerji üretiminde önemli bir rol oynayan karnitin, vücuda endojen ve eksojen yollarla alınır. Vücutta beş adımda gelişen biyosentez, lizin'in metilasyonuyla başlar ve deoksi-karnitin hidroksilaz katalizörlüğü ile deoksikarnitinin karnitine dönüşümüyle sonlanır. Enzimatik aktiviteler memelilerde karaciğerde gerçekleşmektedir (insanlarda karaciğer ve böbreklerde olabilmekte) ve son basamaktaki reaksiyon aktif olarak karnitin sentezi sağlarken, söz konusu enzim aktivitesi kas ve kalp dokusunda gerçekleşmediği için karnitin sentezi bu dokularda gerçekleşemez (175).

Biyosentezin gerçekleşebilmesi için; 4-butiro-betain hidroksilaz enzimi, primer olarak lizin ve metiyonin, kofaktör olaraksa B3, B6, C, folik asit vitaminleri ve demir gerekmektedir. Biyosentezin gerçekleşmesi için metil grubu metiyoninden, karbon zincirleri ve azot grupları ise lizin aminoasitinden temin edilir.

Beslenmeyle alınan karnitin, intestinal aktif ya da pasif taşıma yollarıyla %80'lere kadar emilerek asetile edilir. İnsan vücudunda toplam karnitinin %75'i besin kaynaklıyken %25'i ise endojen sentezlenmektedir. Kandaki karnitin %80'i serbest halde taşınırken %20'si de ester (asil karnitin) formunda taşınmaktadır. Ayrıca doku karnitin düzeyi kandaki düzeye göre 100-500 kat daha fazladır (176).

Eksojen ve endojen elde edilen vücuttaki tüm karnitinin %95'ten fazlası, primer filtrata geçerek reabsorbe edilir. Bu geri emilimin işleyişinde bir bozukluk olmadığı taktirde karnitin yetersizliği normal beslenme devam ettiği sürece gelişmez. (171,176).

Başka bir yönden bakılacak olursa böbreklerde gerçekleşen bu geri emilim, besin yoluyla alınan karnitinin ve Endojen sentezlenen karnitinin düzeylerine, vücut karnitin ihtiyaç düzeyine ve de plazma karnitin düzeylerine göre düzenlenmektedir (176). Vücuttaki toplam karnitininin %98 i karnitine bağımlı olan kalp ve iskelet kas dokularında depo edilir. Kalanıysa karaciğer, böbrek ve beyin gibi organlarda depolanmaktadır. L-karnitinin depolandığı kas dokusundan plazmaya geçişi oldukça yavaştır fakat karaciğerden kana geçişi daha kolaydır ve bu gibi sebeplerle plazma karnitini doku düzeylerini göstermemektedir (177).

2.14.2. Karnitin Biyokimyası ve Fizyolojik Etkileri

Karnitin, "Gama-Trimetil amino beta hidroksi bütirik asit" yapısında ve (CH3)3N-CH2CH(OH)CH2-COOH formülünde olup, suda iyi çözünen 161 Dalton moleküler ağırlıklı bir bileşiktir (168-170). Karnitin, yapısında bir asimetrik karbon bulundurmasından dolayı D ve L formlarına sahiptir vebu formlarından sadece L-formu dokularda sentezlenebilmekte ve metabolik olarak aktiftir. D-formunun metabolik olarak L-formu kadar aktif olmamasının yanısıra yüksek dozlarda toksik etki gösterdiği de belirtilmiştir (178).

Oksidasyona uğrayacak olan uzun zincirli yağ asitlerinin açil-CoA esterleri sadece karnitin eşliğinde sitoplazmadan mitokondriye geçebilirler. Bu geçişe yardımcı olan enzim karnitin açil transferaz olup, karnitin açil transferaz I ve II olarak iki farklı formu vardır. Karnitin açil transferaz I'in katalizi ile asetil CoA ile karnitin birleşerek açil karnitin oluşur. Bu sayede mitokondri matriksine geçen açil karnitin, karnitin açil transferaz II enziminin aktive olmasıyla karnitin ve asetil CoA olaraktekrar oluşanlarına ayrılır ve açıkta kalan asetil CoA'lar ise P-oksidasyon yoluyla enerji sentezine destek olurlar (179-180).Karnitin yetersizliğinde yağ asitlerinin oksidasyonunda azalma olur vebunun ardından karaciğerde yağ asitlerinden trigliserit sentezi gerçekleştirilir. Yine karnitin yetersizliğinde mitokondri içinde toksik açil CoA metabolitlerinin miktarında artış görülür ve bu durum yağ asiti oksidasyonunun, glikoneogenesisin, sitrat siklusunun ve üre siklusunun yetersiz kalmasına sebep olur. Bu tür durumlarda karnitin takviyesi, toksik açil gruplarının idrar yoluyla atılımını kolaylaştıran güvenilir bir tedavi yöntemi olabilir (176,181).

Yağ asitlerinin yetersizliğinde vücuttaki depo halinde olan yağların ß-oksidasyonu artacağından kaslarda ve karaciğerde karnitine olan ihtiyaçta artış olacaktır. Yağ asitlerinin fazlalığı söz konusuysa yağ asitlerinin bir bölümü depolanabilirken, fazla miktardaki artık yağ asitlerinin vücuttan uzaklaştırılması sırasında detoksifikasyonun sağlanması için karnitine olan ihtiyaç yine artacaktır (182). Bu önemli görevinin yanından karnitinin pek çok görevi vardır; ketogenesis, lipolizis, termogenezis, antioksidan etki ve azot metabolizması gibi pek çok farklı noktada önemli rol oynar (174).

Yağ asitlerinin yıkım metabolizması için başlıca yol yağ asitlerinin mitokondriye transferi ve enerji amaçlı beta oksidasyonu reaksiyonudur. Kandan sitoplazmaya geçen serbest yağ asitlerinin öncelikle hücre içinde açilKoA türevlerine dönüşümüyle aktivasyonlarının sağlanması gereklidir. Mitokondriyal iç membranda "açil KoA sentetaz" enzimi orta zincir yağ asitlerini (4-10 karbonlu) ve kısa zincirli yağ asitlerini (asetat ve propiyonat) aktive eder. Kısa zincir yağ asitlerinin sitoplazmadan mitokondriye geçişi kolayken uzun zincir yağ asitleri (22 karbon ve yukarısı) geçemez. Yağ asitlerinini dış membranı geçebilmesi için "Karnitin palmitoil transferaz-I (CPT-I)" enzimi tarafından karnitinle kombinasyon yoluyla açilkarnitine dönüşmesi gereklidir (176,179,180). Bu enzim yağ asitlerinin trigliseridlere dönüşümünde ara basamak olan uzun zincirli açil-koA'yı lipojenaz yolundan oksidasyon yoluna sevkeder ve uzun zincir açil-koA' yı açilkarnitine dönüştürür (183,184). Açilkarnitinin mitokondriyal iç membrandan geçişinihem serbest karnitinin hem de esterlerinin membranlarda her iki yöne transportu sağlayan mitokondriyal translokaz enzimleri sağlar. Karnitin-açilkarnitin translokaz enzimi iç membran karnitin değişim taşıyıcısı gibi hareket eder, asilkarnitin içeri taşınır. İç membran iç yüzeyinde bulunan "Karnitin palmitoyl tranferaz-II (CPT-II)" enzimi, bu yüzeye transloke olan asil grubunun KoA havuzundan çekilen KoA' ya transferini katalize eder, mitokondriyal matrikste tekrar asil-KoA şekillenir, karnitin açığa çıkar (184).

Karnitin, yağ asitlerininin oksidasyonunu sağlayarak vücutta birikmesine engel olur ve trigliserit sentezini azaltır. Kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu etkisi de temelde bu durumdan kaynaklanmaktadır. Hatta böbrek hastalarında hipertrigliserideminin gelişimi karnitin sentezinin azalmasına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Karnitin ayrıca tampon rolü de oynamaktadır: kısa zincirli yağ

asitlerinin (asetat ve propiyonat) aktifleşmesine gerek olmadan da tampon görevli karnitin, bu yağ asitlerini açil karnitine (ester formu) dönüştürerek depolanmalarına ve gerektiği zaman yedek bir enerji kaynağı olarak kullanılmalarına imkân verir (176, 1185).

Benzer bir yolla karnitin, bazı bileşiklerle (örneğin zararlı metabolitlerle) ester kompleksler kurarak antitoksik bir etki gösterir ve hücre membranını ve elemanlarını muhtemel zararlı etkilerden korur. Örnek olarak, bazı endojen ve eksojen bileşiklerin (Glutamin, amonyak vb) konjugasyonunda rol oynarlar ve özellikle muhtemel amonyak toksisitesine karşı beyni ve eklerini korurlar (186). Bu fonksiyon sayesinde karnitin, metabolik reaksiyonlar sonucu vücutta artan kan üre ve amonyak düzeylerinide engelemede aktif bi rol oynar.

Mitokondri içindebiriken kısa zincir açil rezidülerinin ve fizyolojik olmayan bir takım moleküllerin (benzoik, pivalik asitler vs) elenmesi ve yakalanmasında da etkili olan karnitin, mitokondri içinde ayrıca pirüvatı sitrik asite dönüştüren "pirüvat dehidrogenaz" enzimini; mitokondride ATP/ADP değişimini kontrol eden "adenin nükleotid translokaz" enziminin aktivitesini düzenlemektedir (176,182). Bu durumda piruvatın laktik asite dönüşümü bloklanır, aerobik piruvat mekanizması uyarılır.

Beyinde yağ asitlerinin P-oksidasyonunun az olmasına rağmen karnitin, kan-beyin bariyerini aşarak sinir hücrelerinde toplanır (170,176). Bazı çalışmalarda karnitin, beyin dokusunda asetil kolin sentezi için asetil gruplarının transferine yardımcı olarak sinirsel fonksiyonlarda birincil bir role sahip olduğu belirtilmiştir. Benzer bir şekilde sinyal iletimi ve gen ekspresyonunda da ciddi bir roldedir (187). Karnitin bu işlevlerinin dışında valin, löysin ve izolöysin gibi dallı-zincirli aminoasitlerin gerektiği zaman oksidasyonlarında, keton cisimlerinin enerji metabolizması reaksiyonlarında yer almasında, peroksizomal oksidasyonda ve eritrosit membranında fosfolipid yerleşiminde fonksiyonel rol oynamaktadır (176,182).

2.14.3. Karnitin ve Karaciğer Hastalıkları

Karaciğerin çeşitli hastalıklarında karnitin düzeyleri çok defa araştırılarak ölçülmüş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ceccarelli'nin yaptığı araştırmalarda akut, infektif ve toksik hepatitlerde sağlıklı bireylere göre karnitin düzeyleri daha düşük

saptanmıştır. Bunun yanında transferazların düşmesiyle beraber serum karnitin düzeylerinde artış görülmüştür. Kronik hepatit tablolarındaysa normal karnitin düzeyleri ölçülmüştür (188). Karaciğer sirozunda Rudmann ve ekibinin yaptığı araştırmada plazma karnitin seviyeleri düşük bulunmuş ve bu durum karaciğer karnitin sentezinin azalmasına ve malnütrisyona bağlanmıştır (189). Fakat son zamanlarda alkolik karaciğer hastalığında karnitin azalması gözlenmemiş ve aksine yüksek total karnitin seviyeleri görülmüş ve bu durumun kronik-alkolik karaciğer hastalıklarında ester karnitin miktarındaki artıştan kaynaklandığı bildirilmiştir. Fakat bu durum alkol kaynaklı mı yoksa karaciğer hasarı kaynaklı olduğu çözülememiştir (190,191). Bir başka çalışmadaysa sirozu olan bireylerde sağlıklı bireylere göre yüksek karnitin düzeyleri ölçülmüştür (192). Bazı çalışmalarda karaciğer hastalığı şiddetiyle ester karnitin seviyesi arasındaki ilişki tespit edilmiş, bazı çalışmalardaysa böyle bir ilişkinin söz konusu olmadığı bildirilmiştir (190,191,193).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamız için aşağıda yazılı olan araç-gereç ve cihazlar kullanılmıştır.

- Asetonitril (Merc)
- Metanol (Merc)
- Formik asit (Merc)
- Aminoasit kiti (Jasem)
- Santrifüj (Hermle)
- Vorteks (Isolab)
- Distile su cihazı (Nüve)
- Derin dondurucu (-80 ºC)
- Otomatik pipet (Ependorf)
- LC kolon (Restek)
- LC Columns LC-MS/MS 8045 (Shimadzu)
- Kalibratör/Kontrol (Ependorf)
- Hemogram tüpleri (EDTA'lı tüpler-BD Vacutainer)
- Falcon tüp (Isolab)
- Pipet uçları (Isolab)
- Azot gazı (Ankara Gaz)

3.2. Etik Kurul Kararı

Harran Üniversitesi Etik Kurulunda, Hepatosellüler Kanserli Hastalarının Metabolit Profilinin İncelenmesi başlıklı çalışmaya ilişkin, kurulun, 12.04.2021 tarih, 08 nolu oturum ve 31 sayılı kararla, hastalardan yazılı onam ile 2.Helsinki deklarasyonunda belirtilen özelliklere uygun olarak Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurul onayı alındı.

3.3. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji ve Hepatoloji ile Genel Dahiliye polikliniklerine başvuran, hepatosellüler karsinom yeni tanı alan veya karaciğer sirozu nedeni ile takipleri sırasında hepatosellüler karsinom gelişen, 31 erkek, 9 kadın hasta dahil edildi (n=40).

Hepatosellüler karsinomu olmayan (n=40) sağlıklı kontrol grubundan (grup 2,n=40) yaş ve VKI gibi demografik özellikleri benzer ek hastalığı olmayan (tip II DM, esansiyel HT, dislipidemi, malignite) bireylerden oluşturduk.

3.4. Plazmaların Elde Edilmesi

Hastalardan plazma örnekleri için inme tanısı konulan bireylerden edtalı tüplere kan alındı. Alınan kan örnekleri buz aküsü içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Bu kan tüpleri 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Bu işlemin ardından tüplerdeki süpernatant kısmı sarsılmadan yavaşça pipet yardımı ile ependorf tüplere alındı. Her hastanın plazması kendi ismi ile isimlendirilen tüplere alınmıştır. Ependorf tüpler çalışmanın yapılacağı güne kadar -80ºC' de saklandı.

3.5. Numunelerin Aminoasit ve Karnitin Profilinin İncelenmesi

La Marca et tarafından geliştirilen yenidoğan tarama yöntemi ark.(199) ve Azzari ve ark. Kullanıldı (200). Her hastadan alınan plazmalar ile analizler yapıldı.

3,2 mm diskler halinde kesilmiş filtre kağıtları (Whatman filtresi kağıt 10538018) 96 kutucuklu plakalara yerleştirildi. 5 uL plazma örneği eklendi ve oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakıldı. Plazmalar ekstrakte edildi ve 300 µL ekstraksiyon dağıtılarak bütillendi. Metanol ve sulu çözeltiden oluşan çözelti 25 dakika 37°C'de 3 mmol/L hidrat hidrazin içinde bekletildi.

Dahili standartlar için kararlı ağır izotop analogları karnitin ve açilkarnitin (Labeled Carnitine Standart Set B (Cambridge Isotope Laboratories) kullanıldı. Ekstrakte edilen numuneler LCMS-8040'a (Shimadzu Corporation, Japonya) cihazında

analiz edilmek üzere hazırlandı. Her analitin yüzdesi, bir iç standartla karşılaştırılarak tanımlandı. Standart asilkarnitin konsantrasyonları 7.6 ila 152 µmol/L, FIA Akışında 2,2 dakikalık çalışma ile 0,070 µL/dk (A: su + %0,05 formik asit; B: asetonitril, A/B: %30/%70). 40 µL numune enjekte ettik. 30°C'de kolon fırını; desolvasyon çizgisi 300°C idi, ısı 500°C, nebülizasyon gazı 3 L/dk ve kurutma gazı 20 L/dk idi.

3.6. Diğer Biyokimyasal Parametreler

ALT, AST, GGT, total kolesterol, trigliserit gibi diğer biyokimyasal parametreler Roche marka ticari ölçüm kitleri ile Roche Cobas İntegra 800 otoanalizör cihazında ölçüldü.

3.7. Elisa Çalışmaları

Elebscienca marka Human Alpha-Fetoprotein (Catolog No:E-EL-H0070), Human AFP-L3 (Catolog No:E-EL-H0289) elisa protokolleri çalışıldı.

3.8. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğuKolmogorow-Smirnov ve Shaphiro Wilk testleri ile test edilmiştir. Sayısal değişkenlerin normal dağılım gösterenler için Independent Samples t Test normal dağılım göstermeyenler için bağımsız iki grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı ve ikiden fazla bağımsız grupta karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren özellikler için Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve LSD çoklu karşılaştırma testleri, normal dağılmayan özellikler için ise Kruskal Wallis testi ve Allpairwise çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma, kategorik değişkenler için ise sayı ve % değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS Windows version 24.0 paket programı kullanılmış ve $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR ve SONUÇLAR

4.1. Klinik ve Laboratuar Verilerinin Karşılaştırılması

HSK'lı grupta yaş ortalaması 64,3±8,1, HSK'lı olmayan grubunda yaş ortalaması 63,3±8,5 (p:0,68), serum AST ortalaması hasta grubunda 88,1±133,7, kontrol grubunda 31,050±12,9 (p:0,30); serum ALT ortalaması hasta grubunda 97,3±225,1, kontrol grubunda 31,050±11,9 (p:0,24); serum ALP ortalaması hasta grubunda 150,60±83,25, kontrol grubunda 95,3±41,69 (p:0,00); serum GGT ortalaması hasta grubunda 126,07±107,93, kontrol grubunda 79,77±28,01 (p:0,32); serum trigliserid ortalaması hasta grubunda 102,90±34,09, kontrol grubunda 107,07±33,9 (p:0,441) olarak tespit ettik.

Çalışmamızda Alfafetoprotein ortalaması HSK'lı grupta 106±34,9 ng/ml, kontrol grubunda 8,9±3,77ng/ml (p:0,00); Haptoglobin ortalaması hasta grubunda 151,58±54,1ng/ml, kontrol grubunda 37,4±18,3 ng/ml (p:0,00); afp-l3 ortalaması hasta grubunda 36,6±9,1 ng/ml, kontrol grubunda 2,00±0,41 ng/ml (p<0,001); AFP-L3/AFP oranı ortalaması HSK grubunda %33,9± 13,1; kontrol grubunda %25,2±11,4 (p:0,007) anlamlı olarak tespit ettik.

Tablo 4.1. İki Grup Arasında Klinik ve Laboratuar Verilerinin Karşılaştırılması

VERİLER	HSK OLAN GRUP	HSK OLMAYAN GRUP	P DEĞERİ
YAŞ (yıl)	64,3±8,4	63,8±8,0	p:0,68
AST (U/L)	88,1±133,7	31,050±12,9	p:0,30
ALT (U/L)	97,3±225,1	31,050±11,9	p:0,24
ALP (U/L)	150,60±83,25	95,3±41,69	p:0,001
GGT (U/L)	126,07±107,93	79,77±28,01	p:0,32
TRİGLİSERİD (mg/dl)	102,90±34,09	107,07±33,9	p:0,441
ALFAFETOPROTEİN(ng/ml)	106±34,9	8,9±3,77	p:0,001
ALFAFETOPROTEİN-L3(ng/ml)	36,6±9,1	2,00±0,41	P:0,001
AFP-L3/AFP ORANI	33,9± 13,1	25,2±11,4	p:0,007

4.2. Aminoasit Profilinin İncelenmesi

Sağlıklı bireylerden oluşan 40, Hepatosellüler karsinom tanısı konulan 40 hastanın plazma aminoasit düzeyleri yukarıda belirtilen prosedürlere göre belirlenmiştir.

4.2.1. Kontrol ve Hepatosellüler Karsinom Hastalarının Aminoasit Profillemesi

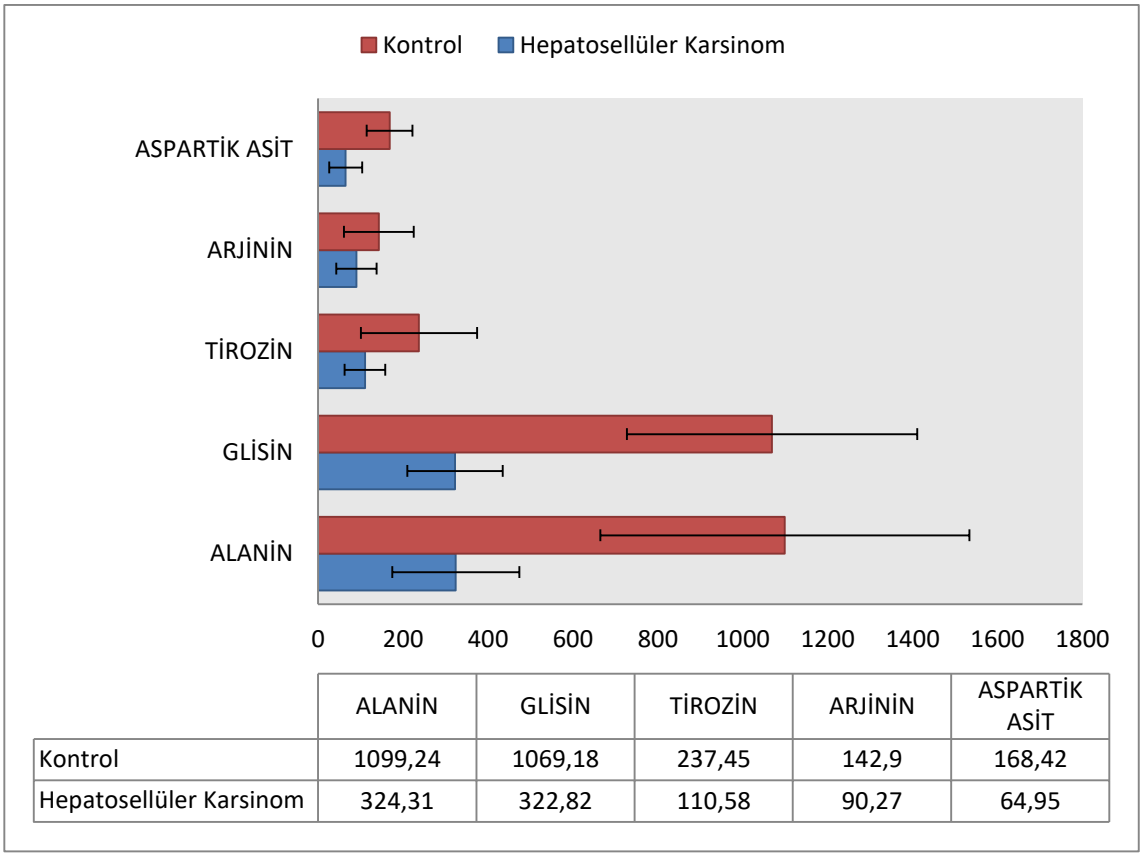
Kontrol ve Hepatosellüler Karsinom hastalarından elde edilen aminoasit sonuçları aşağıda Tablo 4.2'de belirtilmiştir.

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol grupların aminoasit profilinin istatiksel Analizi a. IndependentSamplesT Test* p<0,05, **p<0,001 Hasta (n=40), Kontrol (n=40)

	Hepatosellüler Karsinom			**Kontrol**			
	Min	**Max**	**Ort±SS**	**Min**	**Max**	**Ort±SS**	**p**
MethylGlutaryl	0,01	0,15	0,03 ± 0,01	0,02	0,13	0,05 ± 0,02	0,005
Val	75,65	514,9	187,09 ± 84,56	338,79	1269,16	565,6 ± 194,64	**0,001****
Leu_Ile	66,81	298,67	138,82 ± 53,12	266,81	933,31	438,59 ± 150,26	**0,001****
Met	10,05	88,29	44,63 ± 21,29	39,99	463,09	148,34 ± 94,65	**0,001****
Phe	62,18	303,93	139,14 ± 58,64	183,28	662,3	277,78 ± 106,76	**0,001****
ASA	0	0,1	0,03 ± 0,01	0,06	0,76	0,25 ± 0,16	**0,001****
Tyr	45,86	227,25	110,58 ± 47,9	117,05	799,8	237,45 ± 136,92	**0,001****
Asp	24,06	189,76	64,95 ± 38,69	88,08	299,89	168,42 ± 54,11	**0,001****
Ala	143,53	701,54	324,31 ± 149,85	547,2	2271,52	1099,24 ± 434,5	**0,001****
Arg	15,97	264,15	90,27 ± 47,18	39,07	318,85	142,9 ± 82,35	**0,001****
Cit	7,12	54,92	25,54 ± 12,02	29,31	151,74	56,58 ± 27,04	**0,001****
Gly	123,21	645,18	322,82 ± 112,33	676,87	2333,8	1069,18 ± 342,15	**0,001****
Orn	91,79	811,32	416,65 ± 187,06	151,83	1011,11	560,55 ± 198,95	**0,001****
Glu	95,88	750,07	303,58 ± 158,98	336,81	1867,19	716,2 ± 309,94	**0,001****

SD: Standart Sapma, p değeri Mann-Whitney U testi ile elde edilmiştir, * p değeri Mann-Whitney U testi ile elde edilmiştir.

- Tablo 4.2. 'deki Hasta ve Kontrol gruplarının istatiksel analizi verilmiştir. Bu analize göre, MethylGlutarrylaminoasiti hariç diğer tüm aminoasit değerleri istatiksel olarak anlamlı tespit edildi (* p<0,05, **p<0,001).



	ALANİN	GLİSİN	TİROZİN	ARJİNİN	ASPARTİK ASİT
Kontrol	1099,24	1069,18	237,45	142,9	168,42
Hepatosellüler Karsinom	324,31	322,82	110,58	90,27	64,95

Şekil 4.1. İki grup arasındaki esansiyel olmayan aminoasitlerin ortalama değer grafiği

Esansiyel olmayan aminoasitlerden olan aspartik asit, kontrol grubundaki ortalama değeri 168,42 ± 54,11 µmol/L, hepatosellüler karsinom hasta grubunun ise 64,95 ± 38,69 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşük ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p<0,001$**).

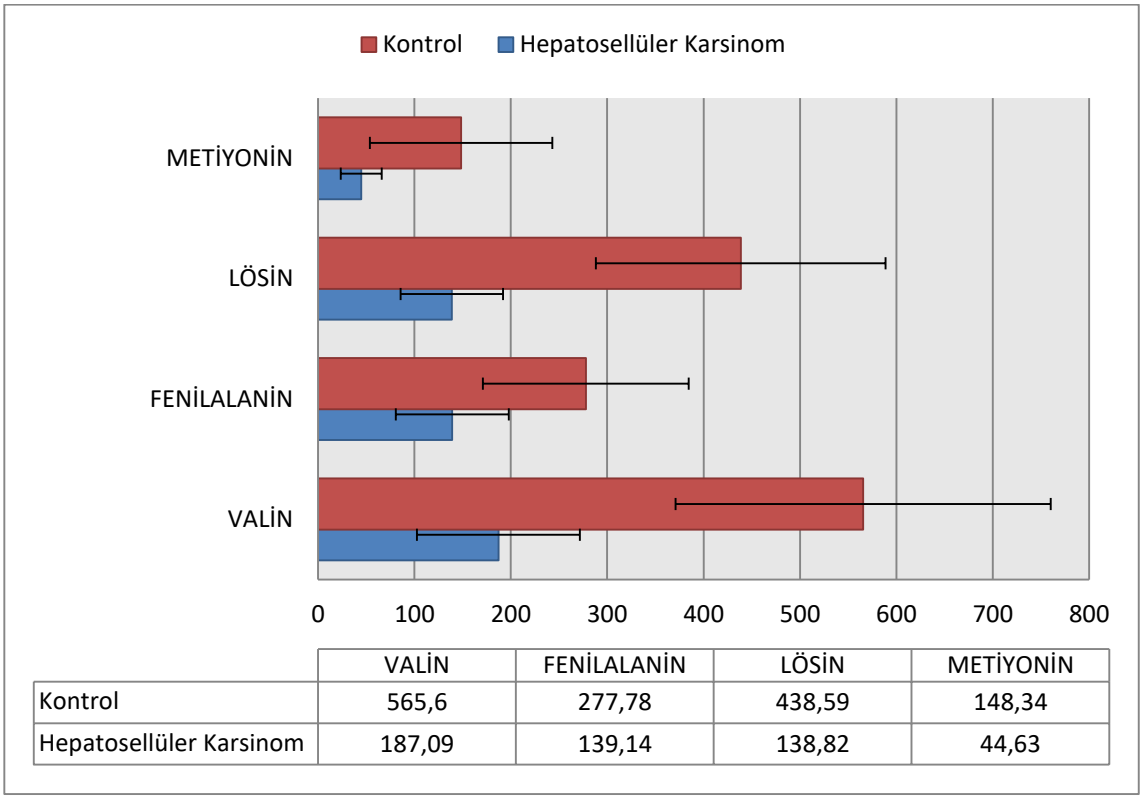
Esansiyel olmayan aminoasitlerinden olan arjinin, kontrol grubundaki ortalama değeri 142,9 ± 82,35 µmol/L, hepatosellüler karsinom hasta grubunun ise 90,27 ± 47,18 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşük ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p<0,001$**).

Esansiyel olmayan aminoasitlerinden olan tirozin, kontrol grubundaki ortalama değeri 237,45 ± 136,92 µmol/L, hepatosellüler karsinom hasta grubunun ise 110,58 ± 47,9 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p<0,001$**).

Esansiyel olmayan aminoasitlerinden olan glisin kontrol grubundaki ortalama değeri 1069,18 ± 342,15 µmol/L, hepatosellüler karsinom hasta grubunun ise 322,82 ± 112,33 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p<0,001$**).

Esansiyel olmayan aminoasitlerinden olan alanin, kontrol grubundaki ortalama değeri 1099,24 ± 434,5 µmol/L, hepatosellüler karsinom hasta grubunun ise 324,31 ± 149,85

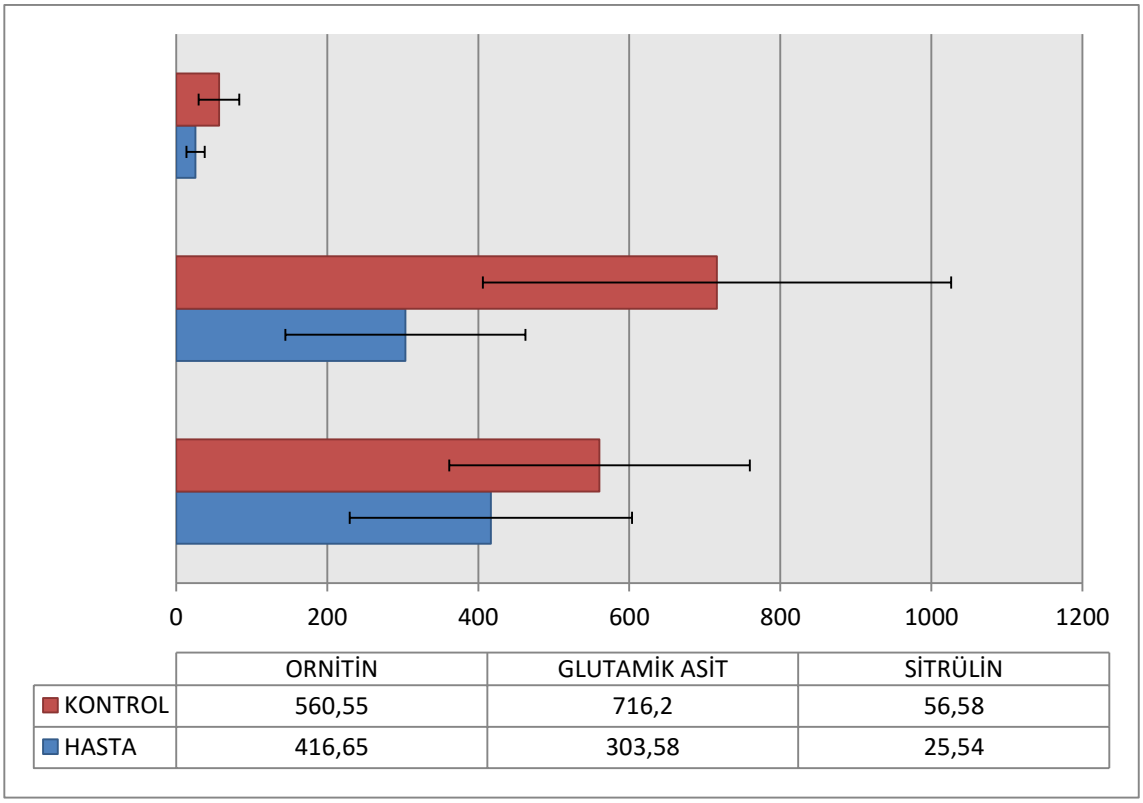
µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p<0,001**).



	VALİN	FENİLALANİN	LÖSİN	METİYONİN
Kontrol	565,6	277,78	438,59	148,34
Hepatosellüler Karsinom	187,09	139,14	138,82	44,63

Şekil 4.2. İki grup arasındaki, esansiyel aminoasitlerin ortalama değer grafiği

Yapılan analiz sonucunda esansiyel aminoasitlerinden olan valin, kontrol grubundaki ortalama değeri 565,6 ± 194,64 µmol/L iken, hepatosellüler karsinom hasta grubunda bu değer 187,09 ± 84,56 µmol/L olup kontrol grubuna göre çok daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak çok anlamlı tespit ettik (p<0,001**).
Yapılan analiz sonucunda esansiyel aminoasitlerinden olan fenilalanin, kontrol grubundaki ortalama değeri 277,78 ± 106,76 µmol/L iken, hepatosellüler karsinom hasta grubunda bu değer 139,14 ± 58,64 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p<0,001**).
Yapılan analiz sonucunda esansiyel aminoasitlerinden olan losin, kontrol grubundaki ortalama değeri 438,59 ± 150,26 µmol/L iken, hepatosellüler karsinom hasta grubunda bu değer 138,82 ± 53,12 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p<0,001**).
Yapılan analiz sonucunda esansiyel aminoasitlerinden olan metiyonin, kontrol grubundaki ortalama değeri 148,34 ± 94,65 µmol/L iken, hepatosellüler karsinom hasta grubunda bu değer 44,63 ± 21,29 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p<0,001**).



	ORNİTİN	GLUTAMİK ASİT	SİTRÜLİN
KONTROL	560,55	716,2	56,58
HASTA	416,65	303,58	25,54

Şekil 4.3. İki grup arasındaki, metabolit aminoasitlerin ortalama değer grafiği

Metabolit aminoasitlerden olan ornitin, kontrol grubunda ortalama değeri 560,55 ± 198,95 µmol/L iken, hepatosellüler karsinom hasta grubunda bu değer 416,65 ± 187,06 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p=0,001**).
Metabolit aminoasitlerden olan glutamik asit, kontrol grubunda ortalama değeri 716,2 ± 309,94 µmol/L iken, hepatosellüler karsinom hasta grubunda bu değer 303,58 ± 158,98 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p=0,001**).
Metabolit aminoasitlerden olan sitrülin, kontrol grubunda ortalama değeri 56,58 ± 27,04 µmol/L iken, hepatosellüler karsinom hasta grubunda bu değer 25,54 ± 12,02 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p=0,001**).

4.3. Karnitin Profilinin İncelenmesi

Sağlıklı bireylerden oluşan 40, Hepatosellüler karsinom tanısı konulan 40 hastanın plazma carnitin düzeyleri yukarıda belirtilen prosedürlere göre belirlenmiştir.

4.3.1. Kontrol ve Hepatosellüler Karsinom Hastalarının Karnitin Profillemesi

Kontrol ve Hepatosellüler Karsinom hastalarından elde edilen karnitin sonuçları aşağıda Tablo 4.3'de belirtilmiştir.

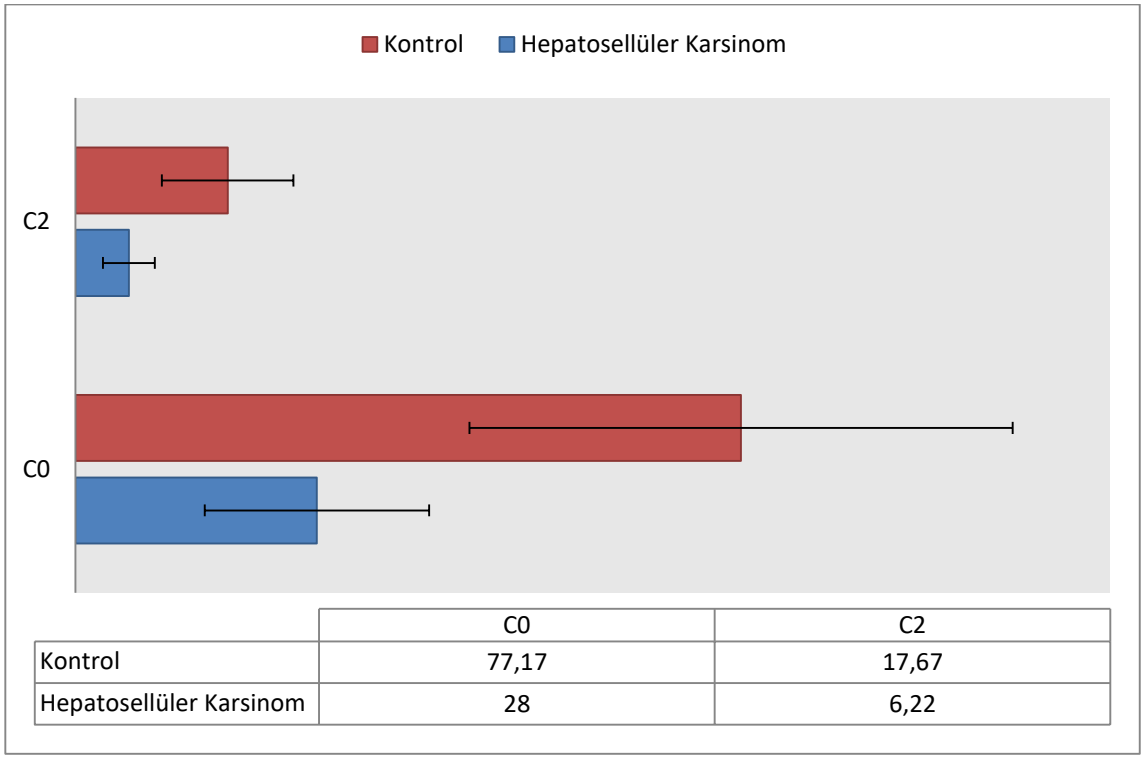
Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grupların karnitin profilinin istatiksel analizi a. Independent SamplesT Test* p<0,05, **p<0,001 Hasta (n=40), Kontrol (n=40)

	Hepatosellüler Karsinom			**Kontrol**			
	Min	**Max**	**Ort±SS**	**Min**	**Max**	**Ort±SS**	**p**
C0	0	63,47	28 ± 13,01	37,24	180,56	77,17 ± 31,49	**0,001****
C2	3,07	21,03	6,22 ± 3,01	9,47	41,72	17,67 ± 7,63	**0,001****
C3	0,24	1,66	0,68 ± 0,37	0,31	1,77	0,69 ± 0,3	0,900
C4	0,09	0,61	0,22 ± 0,12	0,14	1,05	0,36 ± 0,16	**0,001****
C4DC	0,01	0,08	0,03 ± 0,01	0,02	0,1	0,04 ± 0,02	**0,002***
C5	0,12	0,56	0,22 ± 0,09	0,19	0,94	0,35 ± 0,15	**0,001****
C5_1	0,01	0,07	0,03 ± 0,02	0,01	0,09	0,03 ± 0,01	0,338
C5OH	0,06	0,17	0,09 ± 0,03	0,05	0,21	0,08 ± 0,03	0,237
C5DC	0,02	0,23	0,09 ± 0,05	0,03	0,27	0,11 ± 0,05	0,050
C6	0,02	0,12	0,06 ± 0,02	0,04	0,25	0,09 ± 0,03	**0,001****
C6DC	0,01	0,09	0,03 ± 0,02	0,01	0,08	0,04 ± 0,02	**0,004***
C8	0,02	0,22	0,1 ± 0,05	0,05	0,43	0,23 ± 0,11	**0,001****
C8_1	0,01	0,13	0,04 ± 0,03	0,02	0,28	0,1 ± 0,04	**0,001****
C8DC	0,01	0,05	0,02 ± 0,01	0	0,04	0,02 ± 0,01	0,810
C10	0,02	0,31	0,13 ± 0,06	0,04	1,28	0,38 ± 0,1	**0,001****
C10_1	0,02	0,4	0,12 ± 0,05	0,03	0,35	0,11 ± 0,07	0,572
C10DC	0,02	0,05	0,03 ± 0,01	0,03	0,04	0,03 ± 0,01	**0,001****
C12	0,01	0,25	0,05 ± 0,02	0,01	0,22	0,07 ± 0,04	**0,008***
C14	0,01	0,18	0,04 ± 0,02	0,02	0,11	0,07 ± 0,03	**0,047***
C14_1	0	0,21	0,03 ± 0,01	0	0,02	0,03 ± 0,01	**0,017***
C14_2	0	0,06	0,03 ± 0,01	0	0,03	0,03 ± 0,01	1,000
C16	0,03	0,58	0,3 ± 0,1	0,07	0,53	0,38 ± 0,11	**0,002***
C16_1	0	0,08	0,03 ± 0,01	0	0,02	0,03 ± 0,01	0,122
C18	0,01	0,26	0,05 ± 0,02	0,03	0,22	0,08 ± 0,05	**0,001****
C18_1	0	0,3	0,09 ± 0,03	0	0,05	0,02 ± 0,01	0,119
C18_2	0	0,09	0,05 ± 0,02	0	0,05	0,03 ± 0,01	0,786
C18_1_OH	0	0,05	0,03 ± 0,01	0,01	0,05	0,02 ± 0,01	**0,001****

SD: SD: Standart Sapma, p değeri Mann-Whitney U testi ile elde edilmiştir, * p değeri Mann-Whitney U testi ile elde edilmiştir.

Tablo 4.3'deki Hasta ve Kontrol gruplarının istatiksel analizi verilmiştir. Bu analize göre, C0, C2, C4, C4DC, C5, C6, C6DC, C8, C8_1, C10, C10DC, C12, C14,

C14_1, C16, C16_1 VE C18_1_0H değerleri istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur (* p<0,05,**p<0,001).

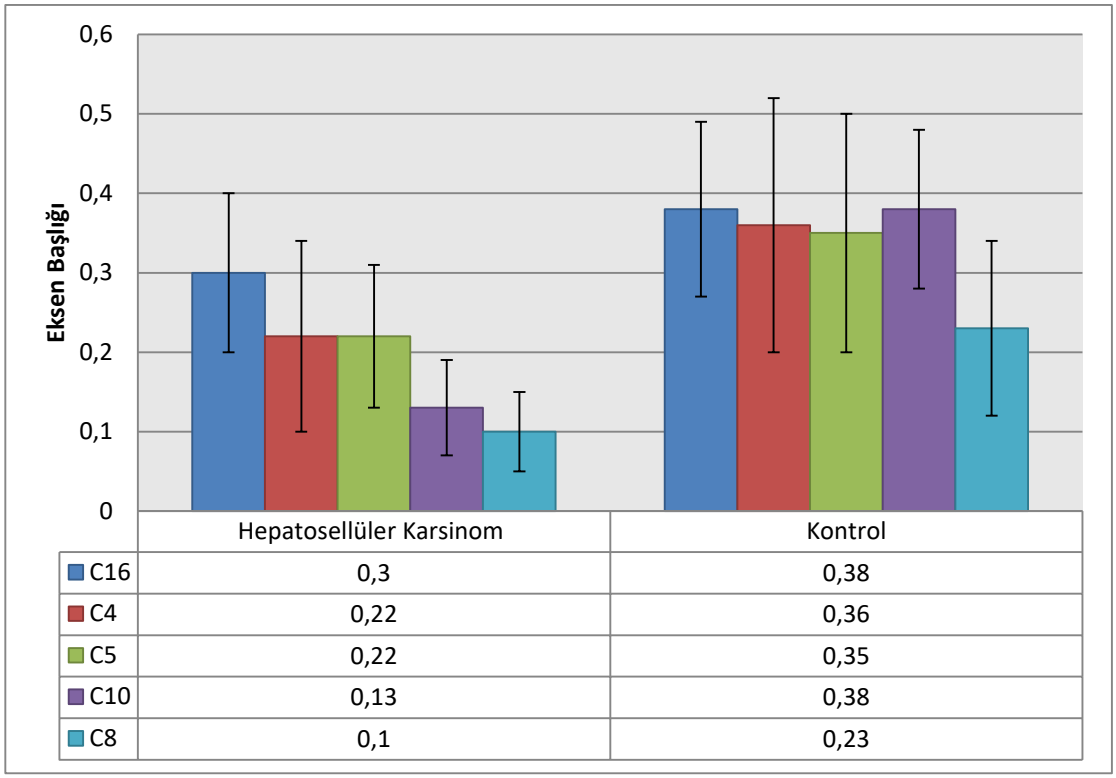


	C0	C2
Kontrol	77,17	17,67
Hepatosellüler Karsinom	28	6,22

Şekil 4.4. İki grup arasındaki, karnitin-1 parametrelerinin ortalama değer grafiği

Kontrol grubunun C0 değeri 77,17 ± 31,49 µmol/L hasta grubunun ise 28 ± 13,01 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p<0,001**).

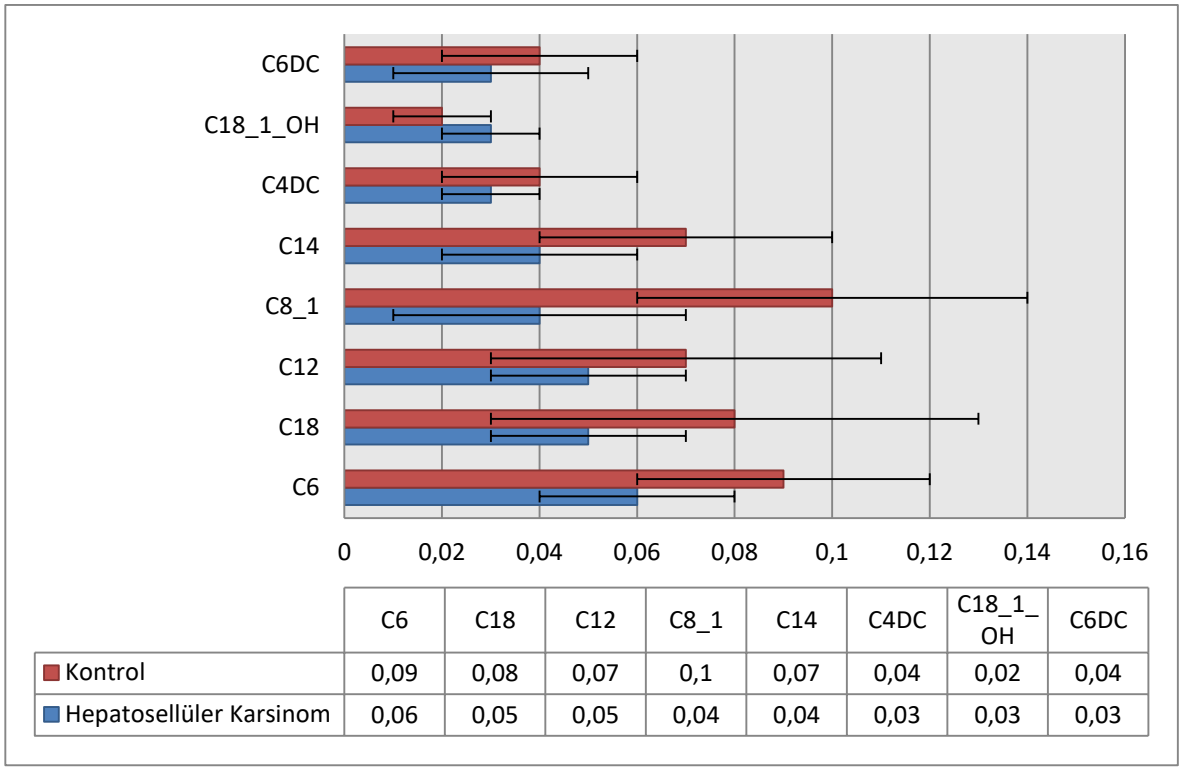
Kontrol grubunun C2 değeri 17,67 ± 7,63 µmol/L hasta grubunun ise 6,22 ± 3,01 µmol/L olup kontrol grubuna göre daha yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (p<0,001**).



	Hepatosellüler Karsinom	Kontrol
C16	0,3	0,38
C4	0,22	0,36
C5	0,22	0,35
C10	0,13	0,38
C8	0,1	0,23

Şekil 4.5. İki grup arasındaki, katnitin-2 parametrelerinin ortalama değer grafiği

Tüm veriler analiz edildiğinde Kontrol ve Hepatosellüler Karsinom grupları karşılaştırıldığında anlamlı çıkan carnitinler Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Bu çıkan veriler doğrultusunda, C16, C4, C5, C10, C8 Kontrol Grubunda daha yüksek seviyede iken, Hepatosellüler Karsinom grubunda giderek düştüğü tespit edildi.



	C6	C18	C12	C8_1	C14	C4DC	C18_1_OH	C6DC
Kontrol	0,09	0,08	0,07	0,1	0,07	0,04	0,02	0,04
Hepatosellüler Karsinom	0,06	0,05	0,05	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03

Şekil 4.6. İki grup arasındaki, katnitin-3 parametrelerinin ortalama değer grafiği

C6 için hepatosellüler karsinom hastalar (0,06 ± 0,02 µmol/L) ile kontrol grubu (0,09 ± 0,03 µmol/L) kıyaslandığında p=0,001**

C18 için hepatosellüler karsinom hastalar (0,05 ± 0,02 µmol/L) ile kontrol grubu (0,08 ± 0,05 µmol/L) kıyaslandığında p=0,001**

C12 için hepatosellüler karsinom hastalar (0,05 ± 0,02 µmol/L) ile kontrol grubu (0,07 ± 0,04 µmol/L) kıyaslandığında p=0,008*

C8:1 için hepatosellüler karsinom hastalar (0,04 ± 0,03 µmol/L) ile kontrol grubu (0,1 ± 0,04 µmol/L) kıyaslandığında p=0,001**

C14 için hepatosellüler karsinom hastalar (0,04 ± 0,02 µmol/L) ile kontrol grubu (0,07 ± 0,03 µmol/L) kıyaslandığında p=0,047*

C4DC için hepatosellüler karsinom hastalar (0,03 ± 0,01 µmol/L) ile kontrol grubu (0,04 ± 0,02 µmol/L) kıyaslandığında p=0,002*

C18:1:OH için hepatosellüler karsinom hastalar (0,03 ± 0,01µmol/L) ile kontrol grubu (0,02 ± 0,01 µmol/L) kıyaslandığında p=0,001**

C6DC için hepatosellüler karsinom hastalar (0,03 ± 0,02 µmol/L) ile kontrol grubu (0,04 ± 0,02µmol/L) kıyaslandığında p=0,004*

5. TARTIŞMA

Hepatoselüler karsinom, gelişmiş ülkelerdeki ciddi sağlık sorunları arasında ilk sıralarda gelmektedir. İnsidans ve mortalitesi bölgelere göre farklılık göstermektedir (194). Etiyolojisinde pek çok faktörünrol oynadığıHCC'nin tedavisi günümüz imkanlarında dahi hâlâ kısıtlıdır. HCC hepatosit hücrelerinde kötü huylu transformasyon ve değişimlerin olduğu genetik düzeyde değişimleri kapsayan ileri seviyebir hastalık olup çok aşamalı bir süreci vardır (195). HCC'nin gelişiminde yer alan moleküler mekanizma halennet olarak anlaşılamamış olduğundan prognozunda yol gösterici bir mekanizma bulunmamaktadır (194,196). Morbidite ve mortalite bakımından ilk sıralarda görülen HCC'ningelişimindegenel olarak en sık HBV veHCV'ninsebep olduğu karaciğer hastalıkları ve siroz suçlanmaktadır. Bunların haricinde sigara, alkol, hepatosteatoz, yüksek AFP, aflatoksin, demir toksitesi ve diğer kimyasallar da HCC gelişiminde rol oynayan risk faktörlerindendir (197).

İnsan vücudunda oluşagelen hastalıklarda vücut sıvılarında bulunan amino asit seviyelerinde dikkate değer değişimler gerçekleşmektedir. Hastalığın prognozuna bağlı gelişen bu amino asit değişimleri farklı yöntemlerle ölçülebilmektedir. Önemli metabolitlerden sayılan amino asitler aynı zamanda metabolomik için önemli bir araştırma konusudur. Biyomoleküler araştırmalar arasında hızla ilgi çeken ve genişleyen bir alan olan metabolomik; biyolojik sıvılarında, doku veya hücrelerden elde edilen ekstrelerinde metabolitlerin kapsamlı araştırması olup biyobelirteçlerin keşfi ve anlaşılmasıamacıyla kullanılan güçlü bir metodtur (198).

Günümüz şartlarındapek çok hastalığın altında yatan nedenler ve tanı amaçlı kullanılabilecekbiyobelirteçler insan vücudundakibiyo-sıvıların metabolomik profili incelenerek keşfedilebilmektedir (199). Son zamanlarda kanserhastalarında serbest aminoasit profil araştırmaları daha da önemli olmakta vebu hastalarda aminoait profillerinde ciddi değişiklikler olduğu tespit edilmiştir (201-205). Serbest aminoasit profillerindeki bu değişimler kanserin oluşum mekanizmasını net olarak açıklamasa dahikanserin etiyolojisi ve patogenezini açıklamak için ilham verici bir biyolojik belirteç olarak değerlendirilebilirler (206).

Kanser hücreleri, glutamin, Glisin, aspartat ve serin vbbazı amino asitlerini DNAsentezinde,anjiyogenezde ve yeni yapısal elemanların sentezinde kullanmaktadır (207). Sentezlenen yapılar büyüme uyarıcı hormonlarya da tümör büyüme faktörleri olarak metabolizmada yerlerini alırlar (208,209). Amino asitlere olan ihtiyacın artması,kanserli hastalarda serbest aminoasit seviyelerinin düşmesine sebep olmaktadır (210).

Glikoz, kanserin büyümesi için bilinen bir enerji kaynağı iken, amino asitler de kanser gelişimini destekleyen önemli enerji kaynaklarıdır. Örneğin, glutamin büyük ölçüde anaplerotiktir ve TCA döngüsünü desteklemek için her iki amin grubundan da vaz geçer (211). Glutamine ek olarak, diğer amino asitler hücreler için fırsatçı yakıt kaynakları olarak işlev görebilir. Dallı zincirli amino asitler (BCAA'lar; valin, lösin ve izolösin), TCA döngüsünü de besleyebilen alternatif organik molekül kaynaklarıdır (212).

Glutamin yoksunluğu üzerine asparagin, apoptotik hücre ölümünü baskılamada kritik bir rol oynar (213, 214). Glutamin tükenmesinden apoptoza bir sinyal ileten pozitif düzenleyici sitrat sentazdır (CS) (157). Normal koşullar altında CS, TCA döngü fonksiyonunu sürdürmek için oksaloasetatı (OAA) glutaminden asetil-CoA ile yoğunlaştırır. CS'nin susturulması, TCA döngüsünden aspartat ve asparajin biyosentezine gelişmiş OAA sapmasına yol açarak hücreleri glutamin tükenmesi aracılı apoptozdan korur (213).

Bu çalışma literatür ile benzer sonuçlar sunmaktadır. Hepatosellüler kanserli hastalarda incelediğimiz aminoasit profilinde, glutamin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır ($p< 0,001$), glutamindeki bu azalma hücreyi apoptoza bağımlı hücre ölümden kaçmasına sebep olduğu düşünülmektedir.

Amino asitler, kanser büyümesini ve metastatik potansiyeli de destekleyen türevler üretir. Arginin türevi poliaminler, küresel kromatin yapısını ve kanser hücresi çoğalmasını modüle ederek gen ifadesini değiştirir (215). Triptofandan üretilen kinurenin, transkripsiyon faktörü aril hidrokarbon reseptörü (AhR) (216-218) bağlanarak ve onu aktive ederek immün baskılamayı indükler (219, 220). Bu, immün toleranslı dendritik hücrelerin (DC'ler) ve düzenleyici T hücrelerinin kanser hücrelerini hedefleme ve ortadan kaldırma yeteneğini bozar (220,221).

Kanser hücresi çoğalması, makromoleküllere zarar verebilecek ve nihayetinde hücre ölümüne yol açabilecek reaktif oksijen türlerinin birikmesine neden olur. Buna karşı koymak için kanser hücreleri, redoks dengesine aracılık etmek için glutamat, glisin ve sisteinden glutatyon sentezine bağımlıdır (222-224).

Kanserli hastalarda sistein düşüklüğü reaktif oksijen türlerini artırıp tümör oluşumunu hızlandırdığı yapılan çalışmalarda görülmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada kanserli hastalardaki sistein seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır.

Kanserli hücreler, normal hücrelere göre daha fazla aminoasit tüketir ve metabolize eder. Bu nedenle, aminoasitlerin kanser oluşumu ve tedavisinde önemli bir rolü vardır. Bizim yaptığımız çalışmada hasta grubundaki aminoasit seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu azalma literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Kanserli hücrelerin aminoasit ihtiyacını karşılamak için, vücuttaki diğer dokulardan aminoasit alımı artar. Bu da kas kaybı, zayıflık, yorgunluk gibi belirtilere yol açabilir. Ayrıca, bazı aminoasitlerin kanserli hücrelerin büyümesini ve yayılmasını desteklediği veya engellediği de gösterilmiştir. Örneğin, arginin amino asidi travma ve kanser gibi ciddi hastalıklarda esansiyel amino asit olarak ele alınır. Arginin, nitrik oksit sentezi için gereklidir ve nitrik oksit, kan damarlarının genişlemesini sağlayarak kanserli hücrelere kan akışını arttırabilir. Bu nedenle, arginin alımının azaltılması veya bloke edilmesi kanser tedavisinde bir strateji olabilir. Benzer şekilde, metiyonin amino asidi de kanserli hücrelerin büyümesi için gerekli olan bir molekül olan S-adenozilmetiyonin (SAM) sentezi için gereklidir. Metiyonin alımının azaltılması veya inhibisyonu da kanserli hücreleri öldürmeye veya büyümelerini durdurmaya yardımcı olabilir.

Bununla birlikte, aminoasitlerin kansere karşı koruyucu veya tedavi edici etkileri de vardır. Örneğin, glutamin amino asidi, bağışıklık sisteminin güçlenmesine ve kemoterapi veya radyasyon tedavisine bağlı yan etkilerin azaltılmasına yardımcı olabilir. Glutamin ayrıca barsak sağlığını da korur ve kolorektal kanser riskini düşürür. Başka bir amino asit olan sistein ise antioksidan özelliği olan glutatyon sentezi için gereklidir. Glutatyon, vücudu serbest radikallerden korur ve DNA hasarını önler. Bu da kanser oluşumunu azaltabilir.

Yapmış olduğumuz çalışmada; esansiyel olmayan amino asitlerden Alanin, glisin, tirozin, arjninin, aspartik asit; esansiyel amino asitlerden valin, fenilalanin, lösin, metiyonin; metabolit amino asitlerden ornitin, glutamik asit, sitrüllin amino asitlerinin seviyelerinde HCC'lu hastalarda kontrol gruplarına göre belirgin ve istatiksel olarak anlamlı düşüşler görülmüş olup mevcut literatürle uyumlu bulgular sağlamaktadır.

Kanser hastalarında görülen aminoasit ihtiyacı, vücudun genel aminoasit havuzundan karşılanmakta ve bu nedenle vücut sıvılarında amino asit seviyelerinde düşüşlere neden olmaktadır. Bu durum kronik olarak aminoasitlerin seviyelerinde düşüşü ve buna sekonder olarak vücut metabolizmasında bozuklukları meydana getirmektedir. Sonuç olarak, aminoasitlerin kanser ile ilişkisi hem olumlu hem de olumsuz yönde olabilir.

Karnitin, yağ asidi oksidasyonu başta olmak üzere vücutta pek çok fizyolojik ve metabolik yolakta yer alan, vitamin benzeri bir gruba dahil doğal bir biyomoleküldür. Ekseriyetle kaslarda, böbrekler ve karaciğerde bulunmaktadır. Subselüler kompartmanda ise mitokondride (özellikle karaciğer ve böbrek mitokondrilerinde) baskın olarak bulunur. Karnitin, eksternal ve internal olarak vucüda alınabilmekte olsa da bazı hastalıklarda eksikliği görülebilmekte ve bu eksikliğin patolojik sonuçları görülebilmektedir (211,212).

Karnitin, vücutta genel olarak serbest karnitin halinde ve daha az miktarda açil karnitinler olarakbulunur. Açil karnitinlerdeki açil grupları, kısa zincirliden (asetilden) uzun zincirliye(palmitoile) dek değişen yapılardır. Karnitinler uzun zincirli yağ asidinin sitoplâzmadan mitokondriye transferi, antioksidan sistemde yer alma, kan ve dokulardan laktik asidi uzaklaştırma, açil grupları için temizleyici sistemişlevi ve membran stabilizasyonu sağlamavbpek çok fizyolojik görevlerde yer almaktadırlar (211,212).

Yapmış olduğumuz çalışmada; esansiyel olmayan amino asitlerden Alanin, glisin, tirozin, arjninin, aspartik asit; esansiyel amino asitlerden valin, fenilalanin, lösin, metiyonin; metabolit amino asitlerden ornitin, glutamik asit, sitrüllin amino asitlerinin seviyelerinde HCC'lu hastalarda kontrol gruplarına göre belirgin ve istatiksel olarak anlamlı düşüşler görülmüş olup mevcut literatürle uyumlu bulgular sağlamaktadır. Kanser hastalarında görülen aminoasit ihtiyacı, vücudun genel aminoasit havuzundan karşılanmakta ve bu nedenle vücut sıvılarında amino asit seviyelerinde düşüşlere neden

olmaktadır. Bu durum kronik olarak aminoasitlerin seviyelerinde düşüşü ve buna sekonder olarak vücut metabolizmasında bozuklukları meydana getirmektedir. Kanser hastalarındaki bu durum kanser metabolizmasında aminoasitlerin ne derece elzem olduğunu bir kez daha ortaya koymaktadır.

Yaptığımız çalışmada karnitin ve serbest karnitin düzeyleri de belirgin istatiksel olarak azalma göstermiş ve bu azalma kendini en ciddi olarak C0 (serbest karnitin) ve C2 olmak üzere profilin genelinde açil karnitinlerde göstermektedir. Çalışmamızda C0, C2, C4, C4DC, C5, C6, C8, C8-1, C10 düzeylerinde HCC'li hastalarda kontrol grubuna göre istatiksel olarak azalma tespit edilmiştir. Karnitin profilindeki bu azalma kanser metabolimasındakarnitinin ciddi rol oynadığı ve metabolik ihtiyacın giderilmesinin vücudun genelinde karnitin eksikliğinin oluşumuna ve buna sekonder olarak vücutta metabolik dengesizliklerin oluşumuna sebep olmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, HCC'li hastaların metabolik profilleri incelendiğinde aminoasit ve karnitin profillerinde belirgin azalmalar görülmekte ve bunun kanserin metabolik olarak aminoasit ve karnitinlere olan ihtiyacının karşılanmasına sekonder olarak geliştiği ve seviyelerdeki azalmanın sebebinin yapım ve yıkım dengesizliği başta olmak üzere protein sentezi ve açilkarnitin sentezindeki bozulmalar olduğu düşünülmektedir. Hastalığın tanısında, prognozunun ve tedavibin takibinin izlenmesinde aminoasit profilinin ve karnitin profilinin birer belirteç olabileceği görülmüştür. Elde edilen bilgiler ışığında yeni çalışmalar yapılabilmesi ve bu çalışmaların verileriyle HCC başta olmak üzere karaciğer kanserlerinin tanı ve tedavilerinde daha net ve daha yol gösterici bilgiler elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Akinyemiju, T., Abera, S., Ahmed, M., Alam, N., Alemayohu, M. A., Allen, C., & Global Burden of Disease Liver Cancer Collaboration. (2017). The burden of primary liver cancer and underlying etiologies from 1990 to 2015 at the global, regional, and national level: results from the global burden of disease study 2015. *JAMA oncology*, *3*(12), 1683-1691.

2. Galle, P. R., Forner, A., Llovet, J. M., Mazzaferro, V., Piscaglia, F., Raoul, J. L., & Vilgrain, V. (2018). EASL clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*, *69*(1), 182-236.

3. El–Serag, H. B., & Rudolph, K. L. (2007). Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*, *132*(7), 2557-2576.

4. Tseng, T. C., Liu, C. J., Yang, H. C., Su, T. H., Wang, C. C., Chen, C. L., & Kao, J. H. (2012). High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load. *Gastroenterology*, *142*(5), 1140-1149.

5. Tseng, T. C., Liu, C. J., Yang, H. C., Su, T. H., Wang, C. C., Chen, C. L., & Kao, J. H. (2012). High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load. *Gastroenterology*, *142*(5), 1140-1149.

6. Chen, C. F., Lee, W. C., Yang, H. I., Chang, H. C., Jen, C. L., Iloeje, U. H., & Chen, C. J. (2011). Changes in serum levels of HBV DNA and alanine aminotransferase determine risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, *141*(4), 1240-1248.

7. Hsu, I. C., Metcalf, R. A., Sun, T., Welsh, J. A., Wang, N. J., & Harris, C. C. (1991). Mutational hot spot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature*, *350*(6317), 427-428.

8. Niederau, C., Heintges, T., Lange, S., Goldmann, G., Niederau, C. M., Mohr, L., & Häussinger, D. (1996). Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *New England Journal of Medicine*, *334*(22), 1422-1427.

9. Varbobitis, I., & Papatheodoridis, G. V. (2016). The assessment of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B under antiviral therapy. *Clinical and molecular hepatology*, *22*(3), 319.

10. Chang, M. H., You, S. L., Chen, C. J., Liu, C. J., Lai, M. W., Wu, T. C., & Cheng, Y. S. (2016). Long-term effects of hepatitis B immunization of infants in preventing liver cancer. *Gastroenterology*, *151*(3), 472-480.

11. Hamilton, S. R., & Aaltonen, L. A. (Eds.). (2000). *Pathology and genetics of tumours of the digestive system* (Vol. 2). Lyon:: IARC press.

12. Sankaranarayanan, R., Masuyer, E., Swaminathan, R., Ferlay, J., & Whelan, S. (1998). Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer research*, *18*(6B), 4779-4786.

13. Herzog, C. E., Andrassy, R. J., & Eftekhari, F. (2000). Childhood cancers: hepatoblastoma. *The oncologist*, *5*(6), 445-453.

14. Nakanuma, Y., Harada, K., Katayanagi, K., Tsuneyama, K., & Sasaki, M. (1999). Definition and pathology of primary sclerosing cholangitis. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*, *6*(4), 333-342.

15. Pichlymayr, R., Ringe, B., Wittekind, C., Bunzendahl, H., Gubernatis, G., Grote, R., & Grosse, H. (1989, February). Liver grafting for malignant liver tumors. In *Transplantation proceedings* (Vol. 21, No. 1 Pt 2, pp. 2403-2405).

16. Chang, M. H., Chen, C. J., Lai, M. S., Hsu, H. M., Wu, T. C., Kong, M. S., & Chen, D. S. (1997). Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. *New England Journal of Medicine*, *336*(26), 1855-1859.

17. Balogh, J., Victor III, D., Asham, E. H., Burroughs, S. G., Boktour, M., Saharia, A., & Monsour Jr, H. P. (2016). Hepatocellular carcinoma: a review. *Journal of hepatocellular carcinoma*, 41-53.

18. Liaw, K. L., Turpin, J., Skjeldestad, F. E., Roberts, C., & Jansen, K. (2004). Infectıon Wıth Hpv 16 And 18 And Subsequent Development Of Cervıcal Intraepıthelıal Neoplasıa In A Norwegıan Communıty-Bawed Cohort. *International Journal of Gynecologic Cancer*, *14* (Suppl 1).

19. Sherman, M. (2005, May). Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors, and screening. In *Seminars in liver disease* (Vol. 25, No. 02, pp. 143-154). Copyright 2005 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.

20. Fitzmaurice, C., Allen, C., Barber, R. M., Barregard, L., Bhutta, Z. A., Brenner, H., & Satpathy, M. (2017). Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA oncology*, *3*(4), 524-548.

21. Göksoy, E., & Kapan, M. (2002). Karaciğerin Primer Habis Tümörleri. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*, 159-182.

22. Nazlıgül, Y., & Uzunköy, A. (2006). Karaciğerin primer malign tümörlerine genel bakış. *Genel Tıp Derg*, *16*(1), 43-8.

23. Marrero JA. (2006). Hepatosellüler karsinom. Curr Opın Gastro; 22: 248-253.

24. Demirci S, Çakmaklı S, Çetin R. (1993). Karaciğer tümörleri ve cerrahi tedavi prensipleri. Temel Klinik Tıp Bilimleri; 15.

25. Ökten, A. (2003). Türkiye'de kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinoma etiyolojisi. *Güncel Gastroenterol*, *7*(3), 187-91.

26. Prieto, J., Melero, I., & Sangro, B. (2015). Immunological landscape and immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, *12*(12), 681-700.

27. Yilmaz, Y., Erdal, E., Atabey, N., & Brian, I. C. (2016). Platelets, microenvironment and hepatocellular carcinoma. *Biochem Anal Biochem*, *5*(2), 1-8.

28. RG, G. (2006). Hepatosellüler karsinom: hastalığın tedavisinde zorlukların aÇılması. *Clin Gastroenterol H*, *1*, 61-72.

29. Pang, R., Tse, E., & Poon, R. T. (2006). Molecular pathways in hepatocellular carcinoma. *Cancer letters*, *240*(2), 157-169.

30. Hellman, S., & Rosenberg, S. A. (Eds.). (1993). *Cancer: principles and practice of oncology*. Lippincott.

31. Quaglia, A., Bhattacharjya, S., & Dhillon, A. P. (2001). Limitations of the histopathogical diagnosis and prognostic assessment of hepatocellular carcinoma. *Histopathology*, *38*(2), 167-174.

32. Czekaj P. (2004). Molecular and cellular mechanisms of chemically in duced hepatocarcino genesis. Pol J Envıron Stud;13: 477-486.

33. Moradpour, D., & Blum, H. E. (2005). Pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *European journal of gastroenterology & hepatology*, *17*(5), 477-483.

34. Lippincott Williams and Wilking. A. (2001). Wolters cancer, principles and parctige of oncology. 6th ed. Kluwer Company; 52 treatment of metatstatic cancer section 3: 1162-1187.

35. Little, S. A., & Fong, Y. (2001, October). Hepatocellular carcinoma: current surgical management. In *Seminars in oncology* (Vol. 28, No. 5, pp. 474-486). WB Saunders.

36. Yıldırım, Y., Özyılkan, Ö., Karakayalı, H., & Haberal, M. (2008). Hepatosellüler karsinomda tedavi yaklaşımları, 4 (18): 248-253.

37. Personeni, N., Pressiani, T., Santoro, A., & Rimassa, L. (2018). Regorafenib in hepatocellular carcinoma: latest evidence and clinical implications. *Drugs in context*, *7*.

38. Weledji, E. P., Orock, G. E., Ngowe, M. N., & Nsagha, D. S. (2014). How grim is hepatocellular carcinoma?. *Annals of Medicine and Surgery*, *3*(3), 71-76.

39. Bialecki, E. S., & Di Bisceglie, A. M. (2005). Clinical presentation and natural course of hepatocellular carcinoma. *European journal of gastroenterology & hepatology*, *17*(5), 485-489..

40. Coakley, F. V., & Schwartz, L. H. (2001, October). Imaging of hepatocellular carcinoma: a practical approach. In *Seminars in oncology* (Vol. 28, No. 5, pp. 460-473). WB Saunders.

41. O'Rourke, J. M., Sagar, V. M., Shah, T., & Shetty, S. (2018). Carcinogenesis on the background of liver fibrosis: Implications for the management of hepatocellular cancer. *World journal of gastroenterology*, *24*(39), 4436.

42. Anstee, Q. M., Reeves, H. L., Kotsiliti, E., Govaere, O., & Heikenwalder, M. (2019). From NASH to HCC: current concepts and future challenges. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, *16*(7), 411-428.

43. Desai, A., Sandhu, S., Lai, J. P., & Sandhu, D. S. (2019). Hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic liver: A comprehensive review. *World journal of hepatology*, *11*(1), 1.

44. Schütte, K., Schulz, C., Poranzke, J., Antweiler, K., Bornschein, J., Bretschneider, T., & Malfertheiner, P. (2014). Characterization and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) in the non-cirrhotic liver. *BMC gastroenterology*, *14*(1), 1-10

45. El-Serag, H. B. (2011). Current concepts. *N Engl J Med*, *365*, 1118-27.

46. McGlynn, K. A., Petrick, J. L., & El-Serag, H. B. (2021). Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, *73*, 4-13.

47. De Mitri, M. S., Pisi, E., Poussin, K., Paterlini, P., Bréchot, C., Baccarini, P., & Beaugrand, M. (1995). HCV-associated liver cancer without cirrhosis. *The Lancet*, *345*(8947), 413-415.

48. Davis, C. R. (2010). Interventional radiological treatment of hepatocellular carcinoma. *Cancer Control*, *17*(2), 87-99.

49. Chiang, C. J., Yang, Y. W., You, S. L., Lai, M. S., & Chen, C. J. (2013). Thirty-year outcomes of the national hepatitis B immunization program in Taiwan. *Jama*, *310*(9), 974-976.

50. Wu, H. C., & Santella, R. (2012). The role of aflatoxins in hepatocellular carcinoma. Hepat Mon. 12: e7238.

51. Forrester, L. M., Neal, G. E., Judah, D. J., Glancey, M. J., & Wolf, C. R. (1990). Evidence for involvement of multiple forms of cytochrome P-450 in aflatoxin B1 metabolism in human liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *87*(21), 8306-8310.

52. Testino, G., Leone, S., & Borro, P. (2014). Alcohol and hepatocellular carcinoma: a review and a point of view. *World journal of gastroenterology: WJG*, *20*(43), 15943.

53. Testino G. (2013). Alcoholic Hepatitis. J Med Life, 6(2), 161-7.

54. Obesity and Over weight, WHO, https://www.who.int/news-room/fact sheets/detail/obesity-and-over weight, erişim: 21.06.2020.

55. Kelly, T., Yang, W., Chen, C. S., Reynolds, K., & He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity*, *32*(9), 1431-1437.

56. Ward, Z. J., Bleich, S. N., Cradock, A. L., Barrett, J. L., Giles, C. M., Flax, C., & Gortmaker, S. L. (2019). Projected US state-level prevalence of adult obesity and severe obesity. *New England Journal of Medicine*, *381*(25), 2440-2450.

57. Seydel, G. S., Kucukoglu, O., Altinbas, A., Demir, O. O., Yilmaz, S., Akkiz, H., & Canbay, A. (2017). Economic growth leads to increase of obesity and associated hepatocellular carcinoma in developing countries. *Annals of hepatology*, *15*(5), 662-672.

58. Davila J A, El-Serag H B. (2012). Ther is in gincidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update. Gastroenterology, 142 (suppl 1), S914.

59. Uyanıkoğlu, A., Coşkun, M., Albayrak, F., Öztürk, Y., Ahmet, T. A. Y., & Kibar, Y. İ. (2013). Genç yaşta hepatoselüler karsinoma ile prezente olan, hepatit B\'ye bağlı iki karaciğer sirozu vakası. *Dicle Tıp Dergisi*, *40*(1), 131-133.

60. Befeler, A. S., & Di Bisceglie, A. M. (2002). Hepatocellular carcinoma: diagnosis and treatment. *Gastroenterology*, *122*(6), 1609-1619.

61. Bruix, J., & Sherman, M. (2011). Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, *53*(3), 1020.

62. Forner, A. R. M. (2010). Rodrigruez de Lope C, Bruix J. *Current Strategy for Staging and Treatment: the BCLC Update and Future Prospects Semin Liver Dis*, *30*, 61-74.

63. Bruix J, Sherman M. (2011). American Association for th Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma: an update. Hepatology, 53:1020-2.

64. Roayaie, S., Obeidat, K., Sposito, C., Mariani, L., Bhoori, S., Pellegrinelli, A., & Mazzaferro, V. (2013). Resection of hepatocellular cancer≤ 2 cm: results from two Western centers. *Hepatology*, *57*(4), 1426-1435.

65. Kuang, M., Xie, X. Y., Huang, C., Wang, Y., Lin, M. X., Xu, Z. F., & Lu, M. D. (2011). Long-term outcome of percutaneous ablation in very early-stage hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, *15*, 2165-2171..

66. Livraghi, T., Meloni, F., Di Stasi, M., Rolle, E., Solbiati, L., Tinelli, C., & Rossi, S. (2008). Sustained complete response and complications rates after radiofrequency ablation of very early hepatocellular carcinoma in cirrhosis: is resection still the treatment of choice?. *Hepatology*, *47*(1), 82-89.

67. Mazzaferro, V., Regalia, E., Doci, R., Andreola, S., Pulvirenti, A., Bozzetti, F., & Gennari, L. (1996). Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *New England Journal of Medicine*, *334*(11), 693-700.

68. El-Serag HB. (2011). Hepatocellular carcinoma. N Engl J Med; 365:1118–27.

69. Lin, S., Hoffmann, K., & Schemmer, P. (2012). Treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Liver cancer*, *1*(3-4), 144-158.

70. Sarasin, F. P., Majno, P. E., Llovet, J. M., Bruix, J., Mentha, G., & Hadengue, A. (2001). Living donor liver transplantation for early hepatocellular carcinoma: a life-expectancy and cost-effectiveness perspective. *Hepatology*, *33*(5), 1073-1079.

71. Llovet, J. M., Schwartz, M., & Mazzaferro, V. (2005, May). Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. In *Seminars in liver disease* (Vol. 25, No. 02, pp. 181-200). Copyright© 2005 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.

72. Li, L., Zhang, J., Liu, X., Li, X., Jiao, B., & Kang, T. (2012). Clinical outcomes of radiofrequency ablation and surgical resection for small hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *27*(1), 51-58.

73. Nicholson, J. K., & Lindon, J. C. (2008). Metabonomics. *Nature*, *455*(7216), 1054-1056.

74. Fiehn, O. (2001). Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. *Comparative and functional genomics*, *2*(3), 155-168.

75. Serkova, N. J., & Brown, M. S. (2012). Quantitative analysis in magnetic resonance spectroscopy: from metabolic profiling to in vivo biomarkers. *Bioanalysis*, *4*(3), 321-341.

76. Hughes, C., Brown, M., Clemens, G., Henderson, A., Monjardez, G., Clarke, N. W., & Gardner, P. (2014). Assessing the challenges of Fourier transform infrared spectroscopic analysis of blood serum. *Journal of biophotonics*, *7*(3-4), 180-188.

77. Heemskerk, A. A., Deelder, A. M., & Mayboroda, O. A. (2016). CE–ESI-MS for bottom-up proteomics: Advances in separation, interfacing and applications. *Mass spectrometry reviews*, *35*(2), 259-271.

78. Robledo, V. R., & Smyth, W. F. (2014). Review of the CE-MS platform as a powerful alternative to conventional couplings in bio-omics and target-based applications. *Electrophoresis*, *35*(16), 2292-2308.

79. Yamashita, T., & Wang, X. W. (2013). Cancer stem cells in the development of liver cancer. *The Journal of clinical investigation*, *123*(5), 1911-1918.

80. Lok, A. S., Sterling, R. K., Everhart, J. E., Wright, E. C., Hoefs, J. C., Di Bisceglie, A. M., & Halt-C Trial Group. (2010). Des-γ-carboxy prothrombin and α-fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, *138*(2), 493-502.

81. Bruix, J., Reig, M., & Sherman, M. (2016). Evidence-based diagnosis, staging, and treatment of patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, *150*(4), 835-853.

82. Want, E. J., Cravatt, B. F., & Siuzdak, G. (2005). The expanding role of mass spectrometry in metabolite profiling and characterization. *Chembiochem*, *6*(11), 1941-1951.

83. Want, E. J., Nordström, A., Morita, H., & Siuzdak, G. (2007). From exogenous to endogenous: the inevitable imprint of mass spectrometry in metabolomics. *Journal of proteome research*, *6*(2), 459-468.

84. Emwas, A. H., Roy, R., McKay, R. T., Ryan, D., Brennan, L., Tenori, L., & Wishart, D. S. (2016). Recommendations and standardization of biomarker quantification using NMR-based metabolomics with particular focus on urinary analysis. *Journal of proteome research*, *15*(2), 360-373.

85. Zhang, A., Sun, H., Yan, G., Wang, P., & Wang, X. (2016). Mass spectrometry-based metabolomics: applications to biomarker and metabolic pathway research. *Biomedical Chromatography*, *30*(1), 7-12.

86. Berisha, A., Dold, S., Guenther, S., Desbenoit, N., Takats, Z., Spengler, B., & Römpp, A. (2014). A comprehensive high-resolution mass spectrometry approach for characterization of metabolites by combination of ambient ionization, chromatography and imaging methods. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *28*(16), 1779-1791.

87. Xu, J., Liu, C., Cai, S., Dong, J., Li, X., Feng, J., & Chen, Z. (2013). Metabolomic profilings of urine and serum from high fat-fed rats via 1 H NMR spectroscopy and pattern recognition. *Applied biochemistry and biotechnology*, *169*, 1250-1261.

88. Zhang, A., Sun, H., Yan, G., Wang, P., & Wang, X. (2015). Metabolomics for biomarker discovery: moving to the clinic. *Biomed research international*, *2015*.

89. Tian, J. S., Xia, X. T., Wu, Y. F., Zhao, L., Xiang, H., Du, G. H., & Qin, X. M. (2016). Discovery, screening and evaluation of a plasma biomarker panel for subjects with psychological suboptimal health state using 1H-NMR-based metabolomics profiles. *Scientific Reports*, *6*(1), 1-12.

90. Nezami Ranjbar, M. R., Luo, Y., Di Poto, C., Varghese, R. S., Ferrarini, A., Zhang, C., & Ressom, H. W. (2015). GC-MS based plasma metabolomics for identification of candidate biomarkers for hepatocellular carcinoma in Egyptian cohort. *PloS one*, *10*(6), e0127299.

91. Safaei, A., Oskouie, A. A., Mohebbi, S. R., Rezaei-Tavirani, M., Mahboubi, M., Peyvandi, M., & Zamanian-Azodi, M. (2016). Metabolomic analysis of human cirrhosis, hepatocellular carcinoma, non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis diseases. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, *9*(3), 158.

92. Gao, H., Lu, Q., Liu, X., Cong, H., Zhao, L., Wang, H., & Lin, D. (2009). Application of 1H NMR-based metabonomics in the study of metabolic profiling of human hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis. *Cancer science*, *100*(4), 782-785.

93. Zhang, B., & Finn, R. S. (2016). Personalized clinical trials in hepatocellular carcinoma based on biomarker selection. *Liver Cancer*, *5*(3), 221-232.

94. Song, P. P., Xia, J. F., Inagaki, Y., Hasegawa, K., Sakamoto, Y., Kokudo, N., & Tang, W. (2016). Controversies regarding and perspectives on clinical utility of biomarkers in hepatocellular carcinoma. *World journal of gastroenterology*, *22*(1), 262.

95. Minton, D. R., Fu, L., Chen, Q., Robinson, B. D., Gross, S. S., Nanus, D. M., & Gudas, L. J. (2015). Analyses of the transcriptome and metabolome demonstrate that HIF1α mediates altered tumor metabolism in clear cell renal cell carcinoma. *PloS one*, *10*(4), e0120649.

96. Jin, L. H., & Wei, C. (2014). Role of microRNAs in the Warburg effect and mitochondrial metabolism in cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *15*(17), 7015-7019.

97. Chen, X. S., Li, L. Y., Guan, Y. D., Yang, J. M., & Cheng, Y. (2016). Anticancer strategies based on the metabolic profile of tumor cells: therapeutic targeting of the Warburg effect. *Acta Pharmacologica Sinica*, *37*(8), 1013-1019.

98. Armitage, E. G., Kotze, H. L., Allwood, J. W., Dunn, W. B., Goodacre, R., & Williams, K. J. (2015). Metabolic profiling reveals potential metabolic markers associated with Hypoxia Inducible Factor-mediated signalling in hypoxic cancer cells. *Scientific Reports*, *5*(1), 15649.

99. Duseja, A. (2014). Staging of hepatocellular carcinoma. *Journal of clinical and experimental hepatology*, *4*, S74-S79.

100. Nakayama, H., & Takayama, T. (2015). Management before hepatectomy for hepatocellular carcinoma with cirrhosis. *World Journal of Hepatology*, *7*(20), 2292.

101. Gao, R., Cheng, J., Fan, C., Shi, X., Cao, Y., Sun, B., & Yan, X. (2015). Serum metabolomics to identify the liver disease-specific biomarkers for the progression of hepatitis to hepatocellular carcinoma. *Scientific reports*, *5*(1), 18175.

102. Peng, B., Liu, F., Han, R., Luo, G., Cathopoulis, T., Lu, K., & Shi, S. L. (2015). Dynamic metabolic change is indicative of inflammation-induced transformation of hepatic cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *66*, 45-58.

103. Bowers, J., Hughes, E., Skill, N., Maluccio, M., & Raftery, D. (2014). Detection of hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients: Biomarker discovery by LC–MS. *Journal of Chromatography B*, *966*, 154-162.

104. Nezami Ranjbar, M. R., Luo, Y., Di Poto, C., Varghese, R. S., Ferrarini, A., Zhang, C., & Ressom, H. W. (2015). GC-MS based plasma metabolomics for identification of candidate biomarkers for hepatocellular carcinoma in Egyptian cohort. *PloS one*, *10*(6), e0127299.

105. Fitian, A. I., Nelson, D. R., Liu, C., Xu, Y., Ararat, M., & Cabrera, R. (2014). Integrated metabolomic profiling of hepatocellular carcinoma in hepatitis C cirrhosis through GC/MS and UPLC/MS-MS. *Liver International*, *34*(9), 1428-1444.

106. Liu, Y., Hong, Z., Tan, G., Dong, X., Yang, G., Zhao, L., & Chai, Y. (2014). NMR and LC/MS-based global metabolomics to identify serum biomarkers differentiating hepatocellular carcinoma from liver cirrhosis. *International journal of cancer*, *135*(3), 658-668.

107. Teng, C. F., Hsieh, W. C., Yang, C. W., Su, H. M., Tsai, T. F., Sung, W. C., & Su, I. J. (2016). A biphasic response pattern of lipid metabolomics in the stage progression of hepatitis B virus X tumorigenesis. *Molecular Carcinogenesis*, *55*(1), 105-114.

108. Dai, W., Yin, P., Chen, P., Kong, H., Luo, P., Xu, Z., & Xu, G. (2014). Study of urinary steroid hormone disorders: difference between hepatocellular carcinoma in early stage and cirrhosis. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *406*, 4325-4335.

109. Stepien, M., Duarte-Salles, T., Fedirko, V., Floegel, A., Barupal, D. K., Rinaldi, S., & Jenab, M. (2016). Alteration of amino acid and biogenic amine metabolism in hepatobiliary cancers: Findings from a prospective cohort study. *International journal of cancer*, *138*(2), 348-360.

110. Darpolor, M. M., Basu, S. S., Worth, A., Nelson, D. S., Clarke-Katzenberg, R. H., Glickson, J. D., & Blair, I. A. (2014). The aspartate metabolism pathway is differentiable in human hepatocellular carcinoma: transcriptomics and 13C-isotope based metabolomics. *NMR in Biomedicine*, *27*(4), 381-389.

111. Clarke, J. D., Novak, P., Lake, A. D., Shipkova, P., Aranibar, N., Robertson, D., & Cherrington, N. J. (2014). Characterization of hepatocellular carcinoma related genes and metabolites in human nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases and sciences*, *59*, 365-374.

112. Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2005). Lehninger Biyokimyanın Temelleri. *Palme Yayıncılık, Ankara*, *116*, 118.

113. Onat, T., Emerk, K., & Sözmen, E. Y. (2002). İnsan Biyokimyası, Ankara: Palme Yayıncılık.

114. Cangiano, C., Muscaritoli, M., Conversano, L., Torelli, G. F., & Cascino, A. (1995). Tumor-induced changes in host metabolism: a possible marker of neoplastic disease. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, *11*(5 Suppl), 595-600.

115. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ. (2011). Biyokimya. 8. Baskı. Ankara; Aktif Yayınevi. s.35- 36, 54-55.

116. Bingöl, G. (1972). Proteinler''. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Sayı: 30.

117. Murray, K., Rodwell, V., Bender, D., Botham, K. M., Weil, P. A., & Kennelly, P. J. (2009). Harper's illustrated biochemistry. 28. *Citeseer, New York, United States*.

118. İbaoğlu, K., & Önal, A. (2004). Uygulamalı Biyokimya.. s.42-354.

119. Costa, G. (1977). Cachexia, the metabolic component of neoplastic diseases. *Cancer Research*, *37*(7_Part_2), 2327-2335..

120. Biyoloji Çalısalım: Organik Bileşikler: Proteinler, Biyoloji Çalışalım: Organik Bileşikler: Proteinler (biyolojiden.blogspot.com).

121. Costa, G. (1977). Cachexia, the metabolic component of neoplastic diseases. *Cancer Research*, *37*(7_Part_2), 2327-2335.

122. Jakubke, H. D., & Jeschkeit, H. (1973). Aminosauren, Peptide, Proteine.

123. Plimmer, R. H. A. (1908). Plimmer RHA & Hopkins FG, ed. The chemical composition of the proteins. *Monographs on biochemistry. Part I. Analysis (2nd ed.). London: Longmans, Green and Co*, 82.

124. Strecker, A. (1850). On the Artificial Formation of Lactic Acid and a New Body Homologous to Glycocoll. *Annalen Der Chemie Und Pharmacie*, *75*(1), 27-45.

125. Johnson, J. A. (2008). Germany: discipline–industry–profession. German chemical organizations, 1867–1914. *Creating networks in chemistry: the founding and early history of chemical societies in Europe*, *313*, 113.

126. Jakubke, H. D., & Jeschkeit, H. (1982). Aminosäuren, Peptide, Proteine. Verlag Chemie.

127. https://aminoacidsguide.com/2019.

128. Greenstein JP, Winitz M. (1961). Chemistry of the Amino Acids. Florida; Robert E. Krieger Publishing Company.

129. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. (2001). Gıda Kimyası Ders Kitabı. 5. baskı. Berlin / Heidelberg / New York; Springer-Verlag. p.33.

130. http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/012930.xml?f=templates$fn=default. ht m$3.0.

131. Hans B, Wolfgang W. (1998). Lehrbuch der OrganischenChemie. Deuchland; Hirzel Verlag: p.823.

132. Jakubke, H. D., & Jeschkeit, H. (1973). Aminosauren, Peptide, Proteine.

133. Showell, M. G., Mackenzie-Proctor, R., Brown, J., Yazdani, A., Stankiewicz, M. T., & Hart, R. J. (2014). Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (12).

134. Dokmeci, D. (2005). Oxidative stress, male infertility and the role of carnitines. *Folia medica, 47*(1), 26-30.

135. Brennan MF, Burt ME. (1981). Nitro gen metabolism in cancer patients. Cancer Treat Rep; 65:67-78.

136. Gold, J. (1974). Cancer cachexia and gluconeogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences, 230*(1), 103-110.

137. Lundholm, K., Edström, S., Ekman, L., Karlberg, I., Bylund, A. C., & Scherstén, T. (1978). A comparative study of the influence of malignant tumor on host metabolism in mice and man. Evaluation of an experimental model. *Cancer, 42*(2), 453-461.

138. Norton, J. A., Shamberger, R., Stein, T. P., Milne, G. W. A., & Brennan, M. F. (1981). The influence of tumor-bearing on protein metabolism in the rat. *Journal of Surgical Research, 30*(5), 456-462.

139. Carmichael, M. J., Clague, M. B., Keir, M. J., & Johnston, I. D. (1980). Whole body protein turnover, synthesis and breakdown in patients with colorectal carcinoma. *Journal of British Surgery, 67*(10), 736-739.

140. Edén, E., Ekman, L., Bennegård, K., Lindmark, L., & Lundholm, K. (1984). Whole-body tyrosine flux in relation to energy expenditure in weight-losing cancer patients. *Metabolism, 33*(11), 1020-1027.

141. Jeevanandam, M., Lowry, S., Horowitz, G., & Brennan, M. (1984). Cancer cachexia and protein metabolism. *The Lancet, 323*(8392), 1423-1426.

142. Abumrad, N. N., & Miller, B. (1983). The physiologic and nutritional significance of plasma-free amino acid levels. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 7*(2), 163-170.

143. Torre, L. A., Siegel, R. L., Ward, E. M., & Jemal, A. (2016). Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends—An UpdateGlobal Cancer Rates and Trends—An Update. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention, 25*(1), 16-27.

144. Curtis, C., Shah, S. P., Chin, S. F., Turashvili, G., Rueda, O. M., Dunning, M. J., & British Columbia Cancer Agency Aparicio Samuel saparicio@ bccrc. ca 17 18 b Shah Sohrab P. 17 18 Bashashati Ali 17 Ha Gavin 17 Haffari Gholamreza 17 McKinney Steven 17 18. (2012). The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature, 486*(7403), 346-352.

145. Osborne, C. K., & Schiff, R. (2011). Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Annual review of medicine*, *62*, 233-247.

146. Gerner, E. W., & Meyskens Jr, F. L. (2004). Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. *Nature Reviews Cancer*, *4*(10), 781-792.

147. Shirahata, A., & Pegg, A. E. (1986). Increased content of mRNA for a precursor of S-adenosylmethionine decarboxylase in rat prostate after treatment with 2-difluoromethylornithine. *Journal of Biological Chemistry*, *261*(29), 13833-13837.

148. Holtta, E. (1977). Oxidation of spermidine and spermine in rat liver: purification and properties of polyamine oxidase. *Biochemistry*, *16*(1), 91-100.

149. Liu, R., Li, P., Bi, C. W., Ma, R., Yin, Y., Bi, K., & Li, Q. (2017). Plasma N-acetylputrescine, cadaverine and 1, 3-diaminopropane: potential biomarkers of lung cancer used to evaluate the efficacy of anticancer drugs. *Oncotarget*, *8*(51), 88575

150. Xu, H., Liu, R., He, B., Bi, C. W., Bi, K., & Li, Q. (2016). Polyamine metabolites profiling for characterization of lung and liver cancer using an LC-tandem MS method with multiple statistical data mining strategies: Discovering potential cancer biomarkers in human plasma and urine. *Molecules*, *21*(8), 1040.

151. van Dam, L., Korolev, N., & Nordenskiöld, L. (2002). Polyamine–nucleic acid interactions and the effects on structure in oriented DNA fibers. *Nucleic acids research*, *30*(2), 419-428.

152. Drew, H. R., & Dickerson, R. E. (1981). Structure of a B-DNA dodecamer: III. Geometry of hydration. *Journal of molecular biology*, *151*(3), 535-556.

153. Panagiotidis, C. A., Artandi, S., Calame, K., & Silverstein, S. J. (1995). Polyamines alter sequence-specific DNA-protein interactions. *Nucleic Acids Research*, *23*(10), 1800-1809.

154. Nakanishi, S., & Cleveland, J. L. (2016). Targeting the polyamine-hypusine circuit for the prevention and treatment of cancer. *Amino acids*, *48*, 2353-2362.

155. Wang, Z., Jiang, J., Qin, T., Xiao, Y., & Han, L. (2019). EIF5A regulates proliferation and chemoresistance in pancreatic cancer through the sHH signalling pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *23*(4), 2678-2688.

156. Guan, X. Y., Fung, J. M., Ma, N. F., Lau, S. H., Tai, L. S., Xie, D., ... & Sham, J. S. (2004). Oncogenic role of eIF-5A2 in the development of ovarian cancer. *Cancer research*, *64*(12), 4197-4200.

157. Mathews, M. B., & Hershey, J. W. (2015). The translation factor eIF5A and human cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, *1849*(7), 836-844.

158. Miyamoto, S., Kashiwagi, K., Ito, K., Watanabe, S. I., & Igarashi, K. (1993). Estimation of polyamine distribution and polyamine stimulation of protein synthesis in Escherichia coli. *Archives of biochemistry and biophysics*, *300*(1), 63-68.

159. Korde Choudhari, S., Chaudhary, M., Bagde, S., Gadbail, A. R., & Joshi, V. (2013). Nitric oxide and cancer: a review. *World journal of surgical oncology*, *11*, 1-11.

160. Badawy, A. A. (2017). Kynurenine pathway of tryptophan metabolism: regulatory and functional aspects. *International Journal of Tryptophan Research*, *10*, 1178646917691938.

161. Masaki, A., Ishida, T., Maeda, Y., Ito, A., Suzuki, S., Narita, T., & Iida, S. (2018). Clinical significance of tryptophan catabolism in Hodgkin lymphoma. *Cancer science*, *109*(1), 74-83.

162. Sperner-Unterweger, B., Neurauter, G., Klieber, M., Kurz, K., Meraner, V., Zeimet, A., & Fuchs, D. (2011). Enhanced tryptophan degradation in patients with ovarian carcinoma correlates with several serum soluble immune activation markers. *Immunobiology*, *216*(3), 296-301.

163. Suzuki, Y., Suda, T., Furuhashi, K., Suzuki, M., Fujie, M., Hahimoto, D., & Chida, K. (2010). Increased serum kynurenine/tryptophan ratio correlates with disease progression in lung cancer. *Lung cancer*, *67*(3), 361-365.

164. Fallarino, F., Grohmann, U., Hwang, K. W., Orabona, C., Vacca, C., Bianchi, R., & Puccetti, P. (2003). Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nature immunology*, *4*(12), 1206-1212.

165. Mezrich, J. D., Fechner, J. H., Zhang, X., Johnson, B. P., Burlingham, W. J., & Bradfield, C. A. (2010). An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *The Journal of Immunology*, *185*(6), 3190-3198.

166. Barbul, A. (2008). Proline precursors to sustain mammalian collagen synthesis. *The Journal of nutrition*, *138*(10), 2021S-2024S.

167. Tang, L., Zeng, J., Geng, P., Fang, C., Wang, Y., Sun, M., & Liu, Y. (2018). Global Metabolic Profiling Identifies a Pivotal Role of Proline and Hydroxyproline Metabolism in Supporting Hypoxic Response in Hepatocellular CarcinomaHypoxia Activates Proline Biosynthesis. *Clinical Cancer Research*, *24*(2), 474-485.

168. Kopec, B., & Fritz, I. B. (1973). Comparison of properties of carnitine palmitoyltransferase I with those of carnitine palmitoyltransferase II, and

preparation of antibodies to carnitine palmitoyltransferases. *Journal of Biological Chemistry*, *248*(11), 4069-4074.

169. Mroczkowska, J. E., Galla, H. J., Nałęcz, M. J., & Nalecz, K. A. (1997). Evidence for an Asymmetrical Uptake of L-Carnitine in the Blood-Brain Barrierin Vitro. *Biochemical and biophysical research communications*, *241*(1), 127-131.

170. Shug, A.L., Schmidt, M.J., Golden, G.T., Fariello, R.T. (1982). The distribution and role of carnitine in the mammalian brain. Life Sciences 31, 2869-2874.

171. Çitil, M. (2002). Veteriner hekimlikte karnitin. *Kafkas Üniv. Veteriner Fakültesi Dergisi*, *8*(1), 77-82.

172. Gülcin, İ. (2006). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life sciences*, *78*(8), 803-811.

173. Siliprandi, N. (1982). Carnitine as a "drug" affecting lipid metabolism: general consideration. *Hypolipidemic drugs; Therapeutic selectivity and risk/benefit assessment. Raven Press, New York*, 265-268.

174. Başpınar, N., & Kurtoğlu, F. (2003). Vitaminler, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ü nitesi, Konya, ISNB.

175. Karnitin, D. G. (1999). sentez, metabolizma, fonksiyon ve iskemik kalpte terapötik önemi. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, *19*(1), 55-62.

176. Evans, A. (2003). Dialysis-related carnitine disorder and levocarnitine pharmacology. *American journal of kidney diseases*, *41*, S13-S26.

177. DaTorre, S. D., Creer, M. H., Pogwizd, S. M., & Corr, P. B. (1991). Amphipathic lipid metabolites and their relation to arrhythmogenesis in the ischemic heart. *Journal of molecular and cellular cardiology*, *23*, 11-22..

178. Arrigoni-Martelli, E., & Caso, V. (2001). Carnitine protects mitochondria and removes toxic acyls from xenobiotics. *Drugs under experimental and clinical research*, *27*(1), 27-49.

179. Rebouche, C.J., 1999. Carnitine. In: Shils M.E., Olson J.A., Shike M., Ross A.C., (Eds.) Nutrition in Healt hand Disease. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, pp. 505-512.

180. Mansour, H. H. (2006). Protective role of carnitine ester against radiation-induced oxidative stress in rats. *Pharmacological research*, *54*(3), 165-171.

181. Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, M.A. (2010). Biyokimya. 4. Baskı. Nobel Yayın evi ISBN: 978-975-591−131-1.

182. SO, K. (2000). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 9. baskı. *Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık*, *3*(45), 581-612.

183. Kudo, N., Barr, A. J., Barr, R. L., Desai, S., & Lopaschuk, G. D. (1995). High rates of fatty acid oxidation during reperfusion of ischemic hearts are associated with a decrease in malonyl-CoA levels due to an increase in 5'-AMP-activated protein kinase inhibition of acetyl-CoA carboxylase. *Journal of Biological Chemistry*, *270*(29), 17513-17520.

184. Feller, A.G., Rudman, D. (2002). Role of carnitine in humannutrition. Journal of Nutrition 118, 541¬547.

185. Baruksal, G. (2010). L-Karnitinin yaşlı sıçanlarda kalp, karaciğer, beyin ve plazma yağ aisdi profillerine ve kalp fonksiyonlarına etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

186. Binienda, Z. K., & Ali, S. F. (2001). Neuroprotective role of L-carnitine in the 3-nitropropionic acid induced neurotoxicity. *Toxicology letters*, *125*(1-3), 67-73.

187. Ceccarelli M., Nutini P., Calevro L., Angelotti L., Lupepti L., Bartelloni M.: Risulta tipreliminarysulla carnitinemia in bambinicon patologia epatica. Minerva Pediadrica, 1989; 41:247-51.

188. Rudman, D., Sewell, C. W., & Ansley, J. D. (1977). Deficiency of carnitine in cachectic cirrhotic patients. *The Journal of clinical investigation*, *60*(3), 716-723.

189. Fuller, R. K., & Hoppel, C. L. (1983). Elevated plasma carnitine in hepatic cirrhosis. *Hepatology*, *3*(4), 554-558.

190. Cooper, M. B., Forte, C. A., Round, J. M., Johnson, R. D., Hughes, R. D., Williams, R., & Jones, D. A. (1987). Plasma carnitine and alcohol induced liver damage. *Medical Science Research*, *15*(11), 671-673.

191. Amodio, P., Angeli, P., Merkel, C., Menon, F., & Gatta, A. (1990). Plasma carnitine levels in liver cirrhosis: relationship with nutritional status and liver damage.

192. Cooper, M. B., Forte, C. A., Round, J. M., Johnson, R. D., Hughes, R. D., Williams, R., & Jones, D. A. (1987). Plasma carnitine and alcohol induced liver damage. *Medical Science Research*, *15*(11), 671-673.

193. Huang, H., Zhang, X. F., Zhou, H. J., Xue, Y. H., Dong, Q. Z., Ye, Q. H., & Qin, L. X. (2010). Expression and prognostic significance of osteopontin and caspase-3 in hepatocellular carcinoma patients after curative resection. *Cancer science*, *101*(5), 1314-1319.

194. Oyama, K., Shiota, G., Ito, H., Murawaki, Y., & Kawasaki, H. (2002). Reduction of hepato carcino genesis by ur so deoxycholic acid in rats. *Carcinogenesis*, *23*(5), 885-892.

195. Zhang, Z. M., Zhong, N., Gao, H. Q., Zhang, S. Z., Wei, Y., Xin, H., & Shi, Q. (2006). Inducing apoptosis and upregulation of Bax and Fas ligand expression by allicin in hepatocellular carcinoma in Balb/c nude mice. *Chinese medical journal*, *119*(05), 422-425.

196. RG, G. (2006). Hepatosellüler karsinom: hastalığın tedavisinde zorlukların aşılması. *Clin Gastroenterol H*, *1*, 61-72.

197. Hollywood, K., Brison, D. R., & Goodacre, R. (2006). Metabolomics: current technologies and future trends. *Proteomics*, *6*(17), 4716-4723.

198. Cheng, M. L., Wang, C. H., Shiao, M. S., Liu, M. H., Huang, Y. Y., Huang, C. Y., & Yang, N. I. (2015). Metabolic disturbances identified in plasma are associated with outcomes in patients with heart failure: diagnostic and prognostic value of metabolomics. *Journal of the American College of Cardiology*, *65*(15), 1509-1520.

199. la Marca, G., Malvagia, S., Pasquini, E., Innocenti, M., Fernandez, M. R., Donati, M. A., & Zammarchi, E. (2008). The inclusion of succinylacetone as marker for tyrosinemia type I in expanded newborn screening programs. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry*, *22*(6), 812-818.

200. Azzari, C., La Marca, G., & Resti, M. (2011). Neonatal screening for severe combined immunodeficiency caused by an adenosine deaminase defect: a reliable and inexpensive method using tandem mass spectrometry. *Journal of allergy and clinical immunology*, *127*(6), 1394-1399.

201. Burroughs, K. D., Dunn, S. E., Barrett, J. C., & Taylor, J. A. (1999). Insulin-like growth factor-I: a key regulator of human cancer risk?. *Journal of the National Cancer Institute*, *91*(7), 579-581.

202. Proenza, A. M., Oliver, J., Palou, A., & Roca, P. (2003). Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content. *The Journal of nutritional biochemistry*, *14*(3), 133-138.

203. Vissers, Y. L., Dejong, C. H., Luiking, Y. C., Fearon, K. C., von Meyenfeldt, M. F., & Deutz, N. E. (2005). Plasma arginine concentrations are reduced in cancer patients: evidence for arginine deficiency?. *The American journal of clinical nutrition*, *81*(5), 1142-1146.

204. Gu, Y., Chen, T., Fu, S., Sun, X., Wang, L., Wang, J., & Wang, M. (2015). Perioperative dynamics and significance of amino acid profiles in patients with cancer. *Journal of translational medicine*, *13*(1), 1-14.

205. Yatabe, J., Yatabe, M. S., Ishibashi, K., Nozawa, Y., & Sanada, H. (2013). Early detection of colon cancer by amino acid profiling using AminoIndex Technology: a case report. *Diagnostic pathology*, *8*(1), 1-4.

206. Miyagi, Y., Higashiyama, M., Gochi, A., Akaike, M., Ishikawa, T., Miura, T., & Okamoto, N. (2011). Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection. *PloS one*, *6*(9), e24143.

207. Okamoto, N., Miyagi, Y., Chiba, A., Akaike, M., Shiozawa, M., Imaizumi, A., & Tochikubo, O. (2009). Diagnostic modeling with differences in plasma amino acid profiles between non-cachectic colorectal/breast cancer patients and healthy individuals. *Int J Med Med Sci*, *1*(1), 1-8.

208. Maeda, J., Higashiyama, M., Imaizumi, A., Nakayama, T., Yamamoto, H., Daimon, T., & Kodama, K. (2010). Possibility of multivariate function composed of plasma amino acid profiles as a novel screening index for non-small cell lung cancer: a case control study. *BMC cancer*, *10*(1), 1-8.

209. Okamoto, N. (2012). Use of "AminoIndex technology" for cancer screening. *Ningen Dock*, *26*(6), 911-922.

210. Schrader, H., Menge, B. A., Belyaev, O., Uhl, W., Schmidt, W. E., & Meier, J. J. (2009). Amino acid malnutrition in patients with chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Pancreas*, *38*(4), 416-421.

211. Bertelli, A., & Ronca, G. (1990). Carnitine and coenzyme Q10: biochemical properties and functions, synergism and complementary action. *International journal of tissue reactions*, *12*(3), 183-186.

212. de Jong, J. W., & Ferrari, R. (Eds.). (2012). *The carnitine system: A new therapeutical approach to cardiovascular diseases* (Vol. 162). Springer Science & Business Media.

213. Zhang, J., Fan, J., Venneti, S., Cross, J. R., Takagi, T., Bhinder, B., & Thompson, C. B. (2014). Asparagine plays a critical role in regulating cellular adaptation to glutamine depletion. *Molecular cell*, *56*(2), 205-218.

214. Pavlova, N. N., Hui, S., Ghergurovich, J. M., Fan, J., Intlekofer, A. M., White, R. M., & Zhang, J. (2018). As extracellular glutamine levels decline, asparagine becomes an essential amino acid. *Cell metabolism*, *27*(2), 428-438

215. Pegg, A. E. (2009). Mammalian polyamine metabolism and function. *IUBMB life*, *61*(9), 880-894.

216. DiNatale, B. C., Murray, I. A., Schroeder, J. C., Flaveny, C. A., Lahoti, T. S., Laurenzana, E. M., & Perdew, G. H. (2010). Kynurenic acid is a potent endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand that synergistically induces interleukin-6 in the presence of inflammatory signaling. *Toxicological sciences*, *115*(1), 89-97.

217. Opitz, C. A., Litzenburger, U. M., Sahm, F., Ott, M., Tritschler, I., Trump, S., & Platten, M. (2011). An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature*, *478*(7368), 197-203.

218. Nguyen, N. T., Kimura, A., Nakahama, T., Chinen, I., Masuda, K., Nohara, K., & Kishimoto, T. (2010). Aryl hydrocarbon receptor negatively regulates dendritic cell immunogenicity via a kynurenine-dependent mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(46), 19961-19966.

219. Greene, L. I., Bruno, T. C., Christenson, J. L., D'Alessandro, A., Culp-Hill, R., Torkko, K., & Richer, J. K. (2019). A role for tryptophan-2, 3-dioxygenase in CD8 T-cell suppression and evidence of tryptophan catabolism in breast cancer patient plasma. *Molecular Cancer Research*, *17*(1), 131-139.

220. Fallarino, F., Grohmann, U., Hwang, K. W., Orabona, C., Vacca, C., Bianchi, R., & Puccetti, P. (2003). Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nature immunology*, *4*(12), 1206-1212.

221. Mezrich, J. D., Fechner, J. H., Zhang, X., Johnson, B. P., Burlingham, W. J., & Bradfield, C. A. (2010). An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *The Journal of Immunology*, *185*(6), 3190-3198.

222. Vaughn, A. E., & Deshmukh, M. (2008). Glucose metabolism inhibits apoptosis in neurons and cancer cells by redox inactivation of cytochrome c. *Nature cell biology*, *10*(12), 1477-1483.

223. Chung, W. J., Lyons, S. A., Nelson, G. M., Hamza, H., Gladson, C. L., Gillespie, G. Y., & Sontheimer, H. (2005). Inhibition of cystine uptake disrupts the growth of primary brain tumors. *Journal of Neuroscience*, *25*(31), 7101-7110.

224. Lo, M., Ling, V., Wang, Y. Z., & Gout, P. W. (2008). The xccystine/glutamate antiporter: a mediator of pancreatic cancer growth with a role in drug resistance. *British journal of cancer*, *99*(3), 464-472.

225. Hensley, C. T., Wasti, A. T., & DeBerardinis, R. J. (2013). Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *The Journal of clinical investigation*, *123*(9), 3678-3684.

226. Green, C. R., Wallace, M., Divakaruni, A. S., Phillips, S. A., Murphy, A. N., Ciaraldi, T. P., & Metallo, C. M. (2016). Branched-chain amino acid catabolism

fuels adipocyte differentiation and lipogenesis. *Nature chemical biology*, *12*(1), 15-21.

Evrak Tarih ve Sayısı: 28.04.2021-28848

HARRAN ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARLARI	
TARİH	: 12.04.2021
OTURUM	: 08
SAAT	: 13.30

HRU/21.08.31	**Karar:** Üniversitemiz Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'nun yürütücüsü olduğu **"Hepatoselüler Kanserli Hastalarının Metabolit Profilinin İncelenmesi"** başlıklı çalışmasına Etik Kurul Onayı verilmesine, Oy çokluğu/oybirliğiyle ile karar verilmiştir. **ASLI GİBİDİR** Prof. Dr. Mehmet Ali EREN Kurul Başkanı

	T.C. HARRAN ÜNİVERSİTESİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS ORİJİNALLİK RAPORU ve BEYAN FORMU	Doküman No : HRÜ-KYS-FRM-015 YayınTarihi : .../.../20... Revizyon No : RevizyonTarihi : Sayfa No : 1 / 2

ÖĞRENCİNİN	
Öğrenci No	205302007
Adı / Soyadı	Sedat YAVUZ
Anabilim Dalı/Programı	Tıbbi Biyokimya / Tezli Yüksek Lisans
Tez Konusu	Hepatosellüler Kanserli Hastalarının Metabolit Profilinin İncelenmesi

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen **Hepatosellüler Kanserli Hastalarının Metabolit Profilinin İncelenmesi** çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler ve d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam **56** sayfalık kısmına ilişkin, 18/01/2023 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı **% 17**'tür. Ayrıca çalışması hiç bir blok kopyalama içermemektedir.

Uygulanan filtrelemeler:

1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
2- Kaynakça hariç
3- Alıntılar hariç/dâhil
4- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yüksek öğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini ve Harran Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Hepatosellüler Kanserli Hastalarının Metabolit Profilinin İncelenmesi** çalışması Orijinallik Raporu alınması ve kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Etik ihlal tespiti halinde, Enstitü yönetim kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

18/01/2023
Hazırlayan Öğrencinin
Sedat YAVUZ

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım.
18/01/2023

Danışman
Doç. Dr. İsmail OYUNCU

HEPATOSELLÜLER KANSERLİ HASTALARININ METABOLİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ

ORİJİNALLİK RAPORU

%17	%16	%8	%9
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%5
2	9lib.net İnternet Kaynağı	%3
3	forum.donanimhaber.com İnternet Kaynağı	%2
4	acikerisim.harran.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%2
5	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	%1
6	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
7	Submitted to (school name not available) Öğrenci Ödevi	<%1
8	www.medicinasportiva.ro İnternet Kaynağı	<%1
9	www.msxlabs.org İnternet Kaynağı	<%1

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

[Ljava.lang.String;@77f12ffc

Referans No	10538765
Yazar Adı / Soyadı	SEDAT YAVUZ
Orcid	
T.C.Kimlik No	53818634042
Telefon	5069910789
E-Posta	sdtyvz.sy@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	HEPATOSELLÜLER KANSERLİ HASTALARININ METABOLİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION OF THE METABOLITE PROFİLE OF PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CANCER
Konu	Biyokimya = Biochemistry
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı
Bilim Dalı	Tıbbi Biyokimya Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2023
Sayfa	90
Tez Danışmanları	DOÇ. DR. İSMAİL KOYUNCU
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

11.04.2023

İmza

